FRESENIUS'
ZEITSCHRIFT FÜR ANALYTISCHE CHEMIE

BEGRÜNDET VON REMIGIUS FRESENIUS

HERAUSGEGEBEN VON

W. FRESENIUS UND A. KURTENACKER

146. BAND
ZWEITES HEFT
MIT 15 ABBILDUNGEN IM TEXT

SPRINGER-VERLAG BERLIN · GÖTTINGEN · HEIDELBERG
J. F. BERGMANN · MÜNCHEN
1955

Z.anal. Chem.

Fresenius' Zeitschrift für analytische Chemie.

Begründet 1862 und herausgegeben bis Band 20 (1881) von *C. Remigius Fresenius*, bis Band 36 (1897) von *C. Remigius* und *Heinrich Fresenius*, Band 37—58 herausgegeben von *Heinrich* und *Wilhelm Fresenius* und *Ernst Hinz*, Band 59 (1920) bis Band 105 von *Wilhelm Remigius* und *Ludwig Fresenius*, Band 105 (1936) von *Remigius* und *Ludwig Fresenius*, Band 106—127 (1944) von *Remigius Fresenius*, Band 128 (1948) herausgegeben von *A. Kurtenacker* und ab Band 129 (1949) von *W. Fresenius* und *A. Kurtenacker*.

Bis Band 58 (1919) Wiesbaden, C. W. Kreidel, Band 59—62 (1922) Wiesbaden, C. W. Kreidel und München, J. F. Bergmann, Band 53—127 (1944) München, J. F. Bergmann, ab Band 128 (1948) München, Bergmann und Berlin, Springer.

Die **„Zeitschrift für analytische Chemie"** erscheint nach Maßgabe des eingehenden Materials in Heften, die zu Bänden vereinigt werden. Der Preis des Bandes beträgt DM 54,—. Sie bringt als „Originalabhandlungen" selbständige Untersuchungen aus allen Gebieten der analytischen Chemie.

Es wird ausdrücklich darauf aufmerksam gemacht, daß mit der Annahme des Manuskripts und seiner Veröffentlichung durch den Verlag das ausschließliche Verlagsrecht für alle Sprachen und Länder an den Verlag übergeht. Grundsätzlich dürfen nur Arbeiten eingereicht werden, die vorher weder im Inland noch im Ausland veröffentlicht worden sind, und die auch nachträglich nicht anderweitig zu veröffentlichen der Autor sich verpflichtet.

Es ist ferner ohne ausdrückliche Genehmigung des Verlages nicht gestattet, photographische Vervielfältigungen, Mikrofilme, Mikrophote u. ä. von den Zeitschriftenheften, von einzelnen Beiträgen oder von Teilen daraus herzustellen.

Der „Bericht über die Fortschritte der analytischen Chemie" enthält, zum Teil in Form von Sammelberichten, kritische Referate über die auf den einzelnen Gebieten an anderer Stelle veröffentlichten Arbeiten über analytische Chemie.

Originalarbeiten und alle sie betreffenden Zuschriften sind zu richten an die

Redaktion der Zeitschrift für analytische Chemie,
Wiesbaden, Kapellenstraße 11/15.

Für Originalabhandlungen wird ein Unkostenersatz von DM 32,— je Druckbogen, jedoch nicht mehr als 1½ Druckbogen für einen Beitrag vergütet.

Die Mitarbeiter erhalten von ihrer Arbeit zusammen 40 Sonderdrucke.

Auf möglichst rasche Veröffentlichung der eingelaufenen Arbeiten wird besonderer Wert gelegt.

J. F. Bergmann
München 27, Trogerstraße 56
Fernsprecher 40535

Springer-Verlag
Heidelberg, Neuenheimer Landstraße 24
Fernsprecher 2440
Berlin W 35, Reichpietschufer 20
Fernsprecher 249251

Band 146 **Inhaltsverzeichnis.** Heft 2

Originalabhandlungen. Seite

Eberius, E., und **E. Jahn,** Beitrag zur titrimetrischen Schnellbestimmung des Gesamtschwefels in Kiesen, Abbränden und Flugstäuben mit Benzidin. Mit 1 Textabbildung 81

Jentzsch, D., und **I. Pawlik** (geb. **Frotscher**), Anwendung von Ionenaustauschern in der analytischen Chemie. III. Mitteilung. Die Elutionskonstanten verschiedener Elemente in salzsaurer Lösung. Mit 5 Textabbildungen 88

Holleck, L., D. Eckardt und **L. Hartinger,** Komplexcolorimetrie Seltener Erden. Mit 4 Textabbildungen. 103

Eswaranarayana, N., and **Bh. S. V. Raghava Rao,** Colorimetric Estimation of Thorium with Carmine Red. With 5 figures in the text. 107

Fernlund, U., und **S. Zechner,** Bestimmung von Phosphor als Chinolinphosphormolybdat. Vereinfachte Fällung von Chinolinphosphormolybdat mit einem einzigen Fällungsreagens 111

Die Wiedergabe von Gebrauchsnamen, Handelsnamen, Warenbezeichnungen usw. in dieser Zeitschrift berechtigt auch ohne besondere Kennzeichnung nicht zu der Annahme, daß solche Namen im Sinn der Warenzeichen- und Warenschutz-Gesetzgebung als frei zu betrachten wären und daher von jedermann benutzt werden dürften.

Aus der Aktiengesellschaft für Zink-Industrie
vormals Wilhelm Grillo, Duisburg-Hamborn.

Beitrag zur titrimetrischen Schnellbestimmung des Gesamtschwefels in Kiesen, Abbränden und Flugstäuben mit Benzidin.

Von
Ernst Eberius und Ernst Jahn.

Mit 1 Textabbildung.

(Eingegangen am 12. Februar 1955.)

Liegt der Schwefel von vornherein oder nach einem Aufschluß als Sulfat-Ion vor, so ist noch immer die bewährte und im Prinzip einfache Bestimmung über das Bariumsulfat die Methode der Wahl. Den Schwierigkeiten bei der Filtration und dem Mitfällen von Fremdsubstanzen weiß man zu begegnen, dagegen ist der erhebliche Zeitbedarf lästig, vor allem bei den laufenden und an kurzzeitige Termine gebundenen Betriebsanalysen.

In dem 1953 erschienenen II. Band: Betriebsanalysen der „Analyse der Metalle“[1] sind zwei maßanalytische Schnellverfahren angegeben, von denen das eine (S. 634) auf der jodometrischen Bestimmung eines Chromatüberschusses, verbunden mit einer Bariumsulfatfällung, beruht, das andere (S. 631, nach Raschig) auf der 1896 erstmalig von Vaubel[8] vorgeschlagenen Benzidinmethode. Das erstgenannte Verfahren verlangt vom Ausführenden eine im Drange der Arbeit nicht immer gewährleistete Sorgfalt, das zweite, an besagtem Orte gewissermaßen nur honoris causa aufgenommen, liefert zu stark und sprunghaft streuende Werte. Es schien jedoch lohnend, den der Benzidinmethode innewohnenden Vorzügen nachzugehen, die Fehlerquellen einzuschränken und die bisher gegebenen Vorschriften so auszubauen, daß die solcherart modifizierte titrimetrische Benzidinmethode den betrieblichen Ansprüchen auf Zuverlässigkeit und Schnelligkeit gerecht werden kann.

Auf der Beobachtung von Vaubel[8] fußend, daß Sulfat-Ion nach Zugabe von Benzidinhydrochloridlösung aus schwach saurer Lösung quantitativ als Benzidinsulfat ausfällt, begründete W. I. Müller[6] eine maßanalytische Bestimmung. Er fällte das Sulfat-Ion mit einer genau eingestellten Benzidinhydrochloridlösung, filtrierte vom gebildeten Benzidinsulfat ab und titrierte das überschüssige Benzidinhydrochlorid mit

eingestellter Natronlauge. F. Raschig[7] zeigte, daß der sich bildende Niederschlag nach

$$C_{12}H_8(NH_2)_2 \cdot H_2SO_4 + 2\,NaOH \rightarrow C_{12}H_8(NH_2)_2 + Na_2SO_4 + 2\,H_2O$$

mit Natronlauge titrierbar ist. Benzidinsulfat ist in Wasser etwas löslich. Der gelöste Anteil ist gemäß

$$C_{12}H_8(NH_2)_2 \cdot H_2SO_4 + 2\,H_2O \rightleftharpoons C_{12}H_8(NH_2)_2 \cdot 2\,H_2O + H_2SO_4$$

hydrolytisch gespalten. Zusatz von Natronlauge stört das Gleichgewicht und weiteres Benzidinsulfat geht bis zur Neutralisation der gesamten Schwefelsäure in Lösung. Als Indicator verwendet man Phenophthalein, da Benzidin eine schwache Base ist.

Wie A. Kurtenacker[5] zeigte, wird die Bestimmung von Sulfat mit Benzidin durch Fremdstoffe kaum gestört. Kalium-, Natrium-, Ammonium- und Chlor-Ionen können in fast beliebiger Menge vorhanden sein. Geringe Mengen von Zink, Aluminium, Magnesium, Mangan, Nickel, Kobalt und Eisen(II) stören nicht, wenn sie einzeln vorliegen[4]. Bei Calcium und Phosphorsäure ist Vorsicht geboten[3]. Eisen(III)-salze stören sowohl bei Verwendung von unreinem Benzidin als auch bei einem Eisengehalt, der über das Verhältnis von 1 Mol Eisen(III) zu 1 Mol Sulfat hinausgeht. Bei Verwendung von technischem oder verunreinigtem Benzidin fallen die Analysenergebnisse zu niedrig aus[2]. Durch Zusatz von Hydroxylaminhydrochlorid können aber sowohl in Gegenwart größerer Eisenmengen als auch bei Verwendung von zurückgewonnenem, gereinigtem Benzidin richtige Resultate erzielt werden[4].

Wenn trotz dieser anscheinend eindeutigen Angaben dieses zur Schnellmethode prädestinierte Verfahren noch nicht den ihm gebührenden Anklang gefunden hat, so liegt der Grund einmal in prinzipiellen, zum anderen in methodischen Schwierigkeiten. Kiese und ausgebrauchte Gasreinigungsmassen sowie deren Abbrände und Flugstäube haben eine sehr heterogene Zusammensetzung. Außer dem bei Kiesen vorherrschenden Eisen, bzw. dem bei Gasreinigungsmassen vorhandenen Eisen und Aluminium, findet man Kieselsäure, Zink, Kupfer, Magnesium, Calcium, Barium und organische Substanzen zum Teil in erheblichen Mengen, Arsen, Nickel und Fluor als gelegentliche Begleiter. Da es sich um eine Schnellmethode handelt, entfällt eine selektive Entfernung etwa störender Begleitsubstanzen wegen des zu hohen Zeitaufwandes. Dazu kommt, daß die quantitative Fällung des Benzidinsulfates, besonders bei Schwefelgehalten unter 3 mg/100 ml, in engen Grenzen von der Säurekonzentration und dem Reinheitsgrad des verwendeten Benzidins abhängig ist. Die methodischen Schwierigkeiten sind in der Hauptsache in der Natur des Benzidinsulfates begründet. Da es in dünnen Blättchen ausfällt, bildet es auf dem Filter eine dichte Haut, die das Abfiltrieren verzögert und das Auswaschen des Niederschlages erschwert. Diese

Schwierigkeiten wachsen, wenn man den Niederschlag absaugt, wie es in einigen Analysenvorschriften verlangt wird[1, 7], und ihn dadurch verdichtet. Auch die Titration wird erschwert, weil sich die ineinander verfilzten Benzidinsulfatkristalle nur sehr schwer durch Schütteln trennen lassen und sich daher nur langsam mit Natronlauge umsetzen.

Grundlage des modifizierten Verfahrens.

Kies, Abbrand oder Flugstaub werden mit Natriumperoxyd im Schmelzfluß aufgeschlossen. Die Schmelze wird in Wasser gelöst, ein aliquoter Teil ohne oder nach Filtration abgenommen, und das Sulfat mit Benzidinhydrochloridlösung, die bereits Hydroxylaminhydrochlorid enthält, ausgefällt. Nach dem Absitzen des Niederschlages wird dekantiert und ohne Saugen abfiltriert, dann unter Aufwirbeln mit 30%igem Methanol an Stelle des bisher verwendeten mit Benzidin gesättigtem Wassers ausgewaschen, mit heißem Wasser in den Fällungskolben zurückgespritzt und mit 0,1 n Natronlauge titriert.

Ausführung der Analyse.

a) Kiese. In einen Eisentiegel von 35 mm ⌀ und 35 mm Höhe werden etwa 15 g Natriumperoxyd eingebracht. Dann wägt man 0,5 g der analysenfein gemahlenen Probe ein, gibt diese in den Tiegel und vermischt gut mit dem Peroxyd. Anschließend überdeckt man das Gemisch mit 5 g Natriumperoxyd und erhitzt in einem Ofen (Abb. 1) bis zum völligen Aufschluß auf helle Rotglut. Der Ofen hält die Wärme zusammen und verhindert den Zutritt der schwefelhaltigen Verbrennungsgase zum Tiegelinhalt sowie das Verspritzen der rotglühenden Schmelze beim Durchbrennen eines Tiegels. Nach dem Abschrecken legt man den Tiegel in ein 500 ml-Becherglas, gibt etwa 200 ml Wasser hinzu und bedeckt sofort mit einem Uhrglas, da durch die Hitzeentwicklung die Lösung stark kocht und spritzt. Nach beendigter Reaktion nimmt man den Tiegel heraus, spritzt ihn und das Uhrglas quantitativ in das Becherglas ab und überführt die Lösung in einen 500 ml-Meßkolben. Dieser wird schnell auf Zimmertemperatur abgekühlt, aufgefüllt und gut durchgeschüttelt. Nach etwa 6—8 min hat sich das Eisen(III)-hydroxyd abgesetzt. Die über-

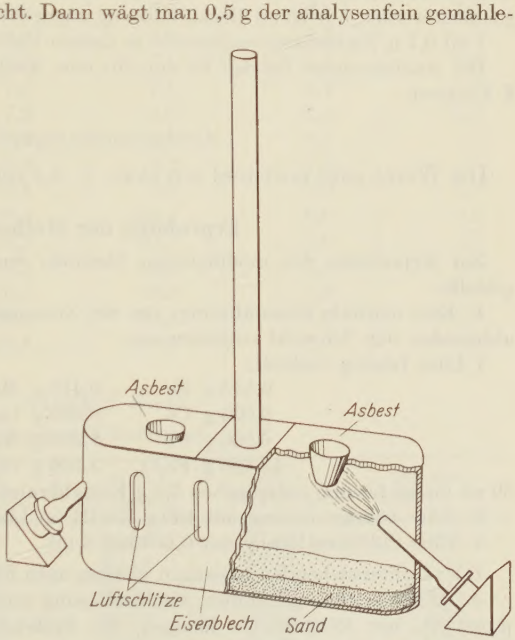


Abb. 1 Aufschlußofen zur Schwefelbestimmung.

stehende Flüssigkeit ist nur noch schwach getrübt. Von dieser pipettiert man 100 ml = 0,1 g Einwaage in einen 300 ml-Erlenmeyer-Weithalskolben. Wahlweise kann man auch die Lösung nach dem Auffüllen und Durchschütteln sofort durch ein trockenes Faltenfilter in einen trockenen Kolben filtrieren und vom Filtrat 100 ml abpipettieren. Beide Operationen benötigen etwa die gleiche Zeit. Man gibt 2 Tropfen 0,1%ige Phenolphthaleinlösung und dann Salzsäure (1 + 1) aus einer Tropfpipette bis zur Entfärbung des Indicators hinzu. Darauf läßt man 50 ml der unten angegebenen Benzidinlösung zulaufen, schüttelt gut durch und läßt 10 min stehen. Inzwischen verschwindet die gelegentlich vorhandene Trübung. Das Benzidinsulfat fällt allmählich aus und setzt sich ab. Der Niederschlag wird zunächst durch ein glattes Filter (z. B. Macherey und Nagel Nr. 640 dd oder Sch. & Sch. Nr. 1573) dekantiert, dann quantitativ mit 30%igem Methanol auf das Filter gebracht, zweimal unter Aufwirbeln des Niederschlages mit obigem Methanol gewaschen und vom Filter mit wenig Methanol in den Fällungskolben zurückgespritzt. Man verdünnt mit Wasser auf ungefähr 150 ml, erhitzt zum Sieden (bzw. verdünnt mit kochendem Wasser auf 150 ml), fügt 5 Tropfen Phenolphthaleinlösung hinzu und titriert heiß mit 0,1 n Natronlauge.

1 ml 0,1 n Natronlauge entspricht 1,603 mg Schwefel oder, bei der oben genannten Einwaage und Abnahme, 1,603% Schwefel.

b) *Abbrände und Flugstäube.* Die Ausführung ist im Prinzip die gleiche, wie bei der Untersuchung von Kiesen. Die Einwaage beträgt 2,5 g, die Abnahme von der Gesamtauffüllung auf 500 ml = 0,5 g Substanz. Wegen des geringeren Schwefelgehaltes werden nur 25 ml Benzidinlösung zugegeben.

1 ml 0,1 n Natronlauge entspricht in diesem Falle 0,3207% Schwefel.

Die *Analysendauer* beträgt 60 min für eine Analyse, 90 min für eine Serie von 6 Analysen.

Analysengenauigkeit.

Die Werte sind maximal um etwa ± 0,4 mg Schwefel unsicher.

Erprobung der Methode.

Zur Erprobung der modifizierten Methode wurden folgende Lösungen hergestellt:

1. Eine neutrale Stammlösung, von der Zusammensetzung eines gelösten Kiesabbrandes, den Schwefel ausgenommen.

1 Liter Lösung enthielt:

0,145 g	Zn	0,415 g	MgO
0,095 g	Cu	0,050 g	CaO
0,080 g	Pb	1,970 g	Al_2O_3
41,150 g	Fe_2O_3	3,500 g	SiO_2.

50 ml dieser Lösung entsprechen 2,5 g Kiesabbrand.

2. Eine wäßrige Lösung mit 400 g NaOH im Liter.

3. Eine Sulfattestlösung mit 0,504 mg S/ml.

Die zu untersuchenden Lösungen wurden nach folgendem Schema hergestellt:

Je 50 ml der oben genannten Abbrandlösung wurden in einen 500 ml-Meßkolben pipettiert, mit wechselnden Mengen der Sulfatstammlösung versetzt und auf 300 ml verdünnt. Unter ständigem Schütteln wurden 50 ml der Natronlauge zugesetzt. Nach dem Absitzen der Hydroxyde wurden von der leicht getrübten Lösung vorsichtig zweimal je 100 ml abpipettiert, der Rest wurde nach dem Aufschütteln durch ein trockenes Faltenfilter in einen trockenen Kolben filtriert und hiervon nahm man zweimal je 100 ml ab.

In je einer Probe der beiden Lösungen, von denen die eine durch das Pipettieren geringe Mengen Eisen enthielt, die andere durch das Filtrieren eisenfrei war, wurde sowohl mit Benzidin als auch mit Bariumchlorid der Schwefelgehalt bestimmt. Die beiden Ausführungen sind in der Tab. 1 mit pip. und filtr. bezeichnet.

Tabelle 1. *Modellversuche.*

Nr.	Gegeben mg S	Abnahme	Gefunden mg S m. Benzidin	Gefunden mg S als $BaSO_4$	Fehler % bestimmt m. Benzidin	Fehler % bestimmt als $BaSO_4$
1	2,0	filtr.	2,2	2,1	+10,0	+ 5,0
		pip.	2,3	2,1	+15,0	+ 5,0
2	2,5	filtr.	2,7	2,7	+ 8,0	+ 8,0
		pip.	2,7	2,6	+ 8,0	+ 4,0
3	3,0	filtr.	3,0	3,0	0,0	0,0
		pip.	3,1	3,0	+ 3,3	0,0
4	4,0	filtr.	3,8	4,0	— 5,0	0,0
		pip.	3,9	4,0	— 2,5	0,0
5	5,0	filtr.	5,0	5,1	0,0	+ 2,0
		pip.	5,0	5,1	0,0	+ 2,0
6	5,5	filtr.	5,4	5,5	— 1,8	0,0
		pip.	5,5	5,5	0,0	0,0
7	6,1	filtr.	5,7	6,0	— 6,5	— 1,7
		pip.	5,9	6,0	— 3,3	— 1,7
8	7,1	filtr.	7,0	7,1	— 1,4	0,0
		pip.	7,0	7,1	— 1,4	0,0
9	8,1	filtr.	7,9	8,0	— 2,5	— 1,2
		pip.	7,9	8,0	— 2,5	— 1,2
10	9,1	filtr.	9,2	9,2	+ 1,1	+ 1,1
		pip.	9,1	9,2	0,0	+ 1,1
11	10,1	filtr.	10,1	10,1	0,0	0,0
		pip.	10,3	10,1	+ 2,0	0,0
12	16,1	filtr.	16,3	16,2	+ 1,2	+ 0,6
		pip.	16,4	16,2	+ 1,9	+ 0,6
13	20,2	filtr.	20,4	20,3	+ 1,0	+ 0,5
		pip.	20,6	20,3	+ 2,0	+ 0,5

Tabelle 2. *Kiese.*
(Meggen, Kalavassos).

Nr.	mg S m. Benzidin	mg S als $BaSO_4$	% S m. Benzidin	% S als $BaSO_4$	Differenz Spalte 5—4
1	73,9	74,0	36,96	37,01	— 0,05
2	74,2	74,0	37,12	37,01	+ 0,11
3	75,1	74,8	37,56	37,38	+ 0,18
4	93,1	92,9	46,53	46,47	+ 0,06
5	94,0	93,8	47,01	46,91	+ 0,10
6	94,3	93,9	47,13	46,95	+ 0,18

Die in den Tab. 2—4 zusammengestellten Analysenergebnisse zeigen die sehr gute Übereinstimmung der nach dem Benzidinverfahren und der $BaSo_4$-Standardmethode erhaltenen Zahlen.

Tabelle 3. *Abbrände.*

Nr.	mg S m. Benzidin	mg S als $BaSO_4$	% S m. Benzidin	% S als $BaSO_4$	Differenz Spalte 5—4
1	1,2	1,7	0,24	0,33	— 0,09
2	2,2	2,2	0,44	0,44	± 0,00
3	2,4	2,8	0,48	0,55	— 0,07
4	3,4	3,5	0,67	0,69	— 0,02
5	4,0	4,6	0,81	0,91	— 0,10
6	4,3	3,9	0,85	0,77	+ 0,08
7	5,0	5,5	1,00	1,10	— 0,10
8	5,9	5,9	1,19	1,19	0,00
9	6,1	6,0	1,21	1,20	+ 0,01
10	6,2	6,6	1,23	1,31	— 0,08
11	10,0	9,8	1,99	1,95	+ 0,04
12	19,3	18,9	3,86	3,76	+ 0,10
13	21,2	20,7	4,25	4,15	+ 0,10
14	21,4	22,0	4,28	4,39	— 0,11
15	22,0	22,1	4,41	4,42	— 0,01
16	24,2	24,1	4,84	4,82	+ 0,02
17	24,8	25,0	4,95	5,00	— 0,05
18	25,1	25,4	5,02	5,08	— 0,06
19	27,0	27,2	5,40	5,43	— 0,03
20	29,0	29,3	5,80	5,86	— 0,06
21	38,9	38,5	7,77	7,70	+ 0,07

Tabelle 4. *Flugstäube.*

Nr.	mg S m. Benzidin	mg S als $BaSO_4$	% S m. Benzidin	% S als $BaSO_4$	Differenz Spalte 5—4
1	9,5	9,9	1,89	1,98	— 0,09
2	12,1	11,6	2,42	2,32	+ 0,10
3	12,2	12,1	2,44	2,43	+ 0,01
4	13,9	14,3	2,77	2,87	— 0,10
5	14,0	14,3	2,81	2,86	— 0,05
6	14,3	14,1	2,85	2,82	+ 0,03
7	16,4	16,8	3,27	3,36	— 0,09
8	23,6	24,1	4,71	4,81	— 0,10
9	23,6	23,9	4,71	4,78	— 0,07
10	26,2	25,8	5,24	5,16	+ 0,08
11	34,0	33,7	6,80	6,73	+ 0,07
12	53,9	53,4	10,77	10,69	+ 0,08

Kiese, Abbrände und Flugstäube werden seit einem Jahr nach dieser Analysenmethode untersucht.

Herstellung der Benzidinlösung.

a) Aus Benzidin p. a. 18,4 g Benzidin p. a. werden in einem 750 ml-Erlenmeyer-Kolben in 500 ml Wasser aufgeschlämmt und mit 50 ml Salzsäure (1 + 1) unter gelindem Erwärmen gelöst. Ferner löst man 10 g Hydroxylaminhydrochlorid in 200 ml Wasser. Sollten die Lösungen getrübt sein, so filtriert man sie nacheinander durch das gleiche Faltenfilter in einen 1000 ml-Meßkolben, füllt bis zur Marke mit Wasser auf und schüttelt gut durch. Die Lösung ist sofort gebrauchsfertig und in einer braunen Flasche etwa 1 Monat haltbar.

b) Aus wiedergewonnenem Benzidinhydrochlorid. 25,7 g Benzidinhydrochlorid werden in einem 750 ml-Erlenmeyer-Kolben mit 500 ml Wasser aufgeschlämmt und mit 10 ml Salzsäure (1 + 1) gelöst. Dieser Lösung setzt man 10 g Hydroxylaminhydrochlorid in 200 ml Wasser zu und verfährt weiter wie unter *a*).

Sammeln und Aufarbeiten der Benzidinrückstände.

Die Filtrate der Benzidinsulfatfällungen und die titrierten Lösungen werden zur Rückgewinnung des Benzidins in einer größeren Flasche unter Zusatz von verdünnter Schwefelsäure gesammelt. Von Zeit zu Zeit hebert man die überstehende klare Flüssigkeit vom abgesetzten Benzidinsulfatschlamm ab. Nimmt der sehr voluminöse Niederschlag etwa die Hälfte der Flasche ein, so saugt man ihn durch umgekehrte Filtration möglichst trocken, bringt ihn auf eine Filternutsche und wäscht zweimal mit Wasser. Der Rückstand wird mit Wasser aufgeschlämmt, mit einigen Tropfen Phenolphthaleinlösung und unter Erwärmen mit soviel 20%iger Natronlauge versetzt, bis die entstehende Rotfärbung bestehen bleibt. Man läßt erkalten und saugt den Niederschlag, der jetzt aus verunreinigtem Benzidin besteht, über eine Nutsche ab. Den Rückstand wäscht man bis zum Verschwinden der Sulfatreaktion mit kaltem Wasser aus. Das Rohbenzidin wird wieder in Wasser aufgeschlämmt und unter Erwärmen allmählich mit Salzsäure (1 + 1) aufgelöst. Nach Zugabe von etwa 20 g gepulverter Aktivkohle erhöht man die Temperatur auf etwa 90° C und filtriert nach 10 min durch ein Faltenfilter, wäscht den Rückstand mit Wasser aus und gibt solange konz. Salzsäure zum Filtrat, bis die Fällung von Benzidinhydrochlorid beendet ist. Dann läßt man erkalten und absitzen, dekantiert und saugt das Benzidinhydrochlorid über eine Filternutsche ab. Das Chlorid wird zweimal mit Methanol und einmal mit Äther gewaschen und im Luftstrom getrocknet. Es kann zur Herstellung der Fällungslösung nach Vorschrift *b*) verwendet werden.

Zusammenfassung.

Es wird eine Analysenmethode beschrieben, die es erlaubt, in Ergänzung der bisher bekannten Vorschläge mit Hilfe von Benzidin den Gesamtschwefelgehalt von Kiesen, Abbränden und Flugstäuben mit genügender Genauigkeit bei geringem Zeitaufwand titrimetrisch zu bestimmen. Gleichzeitig wird eine Arbeitsvorschrift zur Rückgewinnung des verwendeten Benzidins mitgeteilt.

Literatur.

[1] Analyse der Metalle, 2. Band, Betriebsanalysen, Kapitel Schwefel (Bearbeiter: Milde, Becker, Eberius), hrsg. v. Chemikerausschuß der Ges. Deutscher Metallhütten- und Bergleute, S. 631, 634. Berlin: Springer-Verlag, 1953. — [2] Friedheim, C., u. O. Nydegger: Angew. Chem. **20**, 9 (1907); vgl. diese Z. **47**, 507 (1908). — [3] Järvinen, K. K.: Ann. Acad. sci. fenn. Ser. A, Tom 2, Nr. 4 und 16; vgl. diese Z. **51**, 494 (1912). — [4] Knorre, G. von: Chem. Ind. **28**, 2 (1905); vgl. diese Z. **45**, 776 (1906). — [5] Kurtenacker, A.: Analytische Chemie der Sauerstoffsäuren des Schwefels, S. 26, Sammlung: Die chemische Analyse, hrsg. v. W. Böttger, 38. Band, Stuttgart: Ferdinand Enke Verlag, 1938. — [6] Müller, W. J.: Ber. dtsch. chem. Ges. **35**, 1587 (1902); vgl. diese Z. **42**, 477 (1903); **43**, 112 (1904). — [7] Raschig, F.: Angew. Chem. **16**, 617, 818 (1903); vgl. diese Z. **43**, 113 (1904). — [8] Vaubel, W.: diese Z. **35**, 163 (1896).

Dr. Ernst Jahn, Diplomchemiker, 21a Dülmen/Westf., Ludwig-Wiesmann-Str. 9.

Aus dem Forschungsinstitut für NE-Metalle Freiberg/Sachsen,
Abteilung für physikalische und analytische Chemie.

Anwendung von Ionenaustauschern in der analytischen Chemie.

III. Mitteilung,

Die Elutionskonstanten verschiedener Elemente in salzsaurer Lösung.

Von
D. Jentzsch und I. Pawlik*.

Mit 5 Textabbildungen.

(Eingegangen am 21. Februar 1955.)

1. Einleitung.

In unserer II. Mitteilung[3] war das Adsorptionsverhalten einer Reihe von Elementen am Wofatit L 150 beschrieben und auf die Bedeutung der einzelnen Elutionskonstanten, sowie auf Trennmöglichkeiten hingewiesen worden. Die Kenntnisse über das Adsorptionsverhalten konnten inzwischen auf 5 weitere Elemente ausgedehnt werden. Weiterhin liegen quantitative Messungen über die Elutionskonstanten von 7 verschiedenen Elementen vor, über die in dieser Mitteilung neben Einflüssen verschiedener experimenteller Bedingungen auf die Elutionskonstanten berichtet werden soll.

2. Das Verhalten weiterer Elemente am Wofatit L 150.

Die Untersuchungen wurden auf die Elemente Antimon(III), Chrom(III), Gallium, Wismut(III) und Zinn(II) ausgedehnt, um das analytische Anwendungsgebiet dieser Arbeitsweise erweitern zu können. Tab. 1 gibt eine Gesamtübersicht der von uns bisher untersuchten Elemente mit den bestimmten Elutionssäurekonzentrationen.

Danach gesellt sich Gallium zu den Elementen, die unter diesen Verhältnissen keine Komplexe bilden. Es verhält sich also — wie in seinen anderen chemischen Eigenschaften — ähnlich dem Aluminium; die amerikanischen Messungen[6], nach denen Gallium analog dem dreiwertigen Eisen am Anionenaustauscher zunächst gebunden bleiben soll, konnten mit Wofatit L 150 nicht bestätigt werden.

Auch das zweiwertige Zinn läuft bereits mit etwa 12 m Salzsäure relativ ungehindert durch die Wofatitsäule durch. Es verhält sich somit in

* Geb. Frotscher.

dieser Wertigkeitsstufe bei der angegebenen Säurekonzentration wesentlich anders als das Indium. Außerdem kann das zweiwertige Zinn jedoch auch mit 0,25 m Salzsäure gut eluiert werden (näheres siehe unten). Die Elemente Antimon und Wismut waren mit keiner Säurekonzentration aus der Säule herauszuspülen. Erst mit Anwendung von Lauge sind — nach teilweiser hydrolytischer Spaltung — die Elemente im Eluat nachweisbar. Über den näheren Chemismus bei diesen Elementen kann noch nichts gesagt werden.

Tabelle 1.

Gesamtübersicht über das Adsorptionsverhalten von Metall-Ionen am Wofatit L 150. Einwaage: (im allgemeinen) 36,0 mg, für In 4,0 mg, für Sn^{II} und Sn^{IV} 72,0 mg; Säulenlänge: 10—15 cm; Säulenquerschnitt: 0,5 cm².

HCl-Molarität	12,5	10	7,5	7,0	6,5	5	4	1,5	1	0,5	0,25	0,05	0,005	alkalisch
Al, Ga, Mg Alkalien	x													
As, Ca, Ni		x												
Sn^{II}	(x)										x			
Fe^{II}			x											
Cr^{III}				x										
Co, Mn^{II}					x									
Fe^{III}						x								
Cu							x							
Sn^{IV}								x						
In									x					
Zn	(x)									x				
Cd												x		
Pb													x	
Sb^{III}, Bi														x

3. Die allgemeine Bedeutung der Elutionskonstanten.

Auf den Wert der von K. A. Kraus u. G. E. Moore[5] verwendeten Elutionskonstanten E für die Durchführung quantitativer Trennungen nach dem bisher beschriebenen Prinzip haben wir schon in unserer II. Mitteilung hingewiesen.

Die Elutionskonstante E ist von einer ganzen Reihe anderer Größen abhängig und die bisher zur Definition benutzte Gleichung

$$E = \frac{d \cdot A}{V} \qquad (1)$$

— wobei d die Entfernung in Zentimeter bedeutet, die beim Säulenquerschnitt A (cm²) von einer Adsorptionsbande zurückgelegt wird, wenn V ml Elutionsmittel durch die Säule gelaufen sind —, stellt eine sehr vereinfachte Form dar, die keineswegs zur Festlegung der Arbeitsbedingungen für quantitative Trennungen genügt. Im folgenden werden die einzelnen Größen, die auf den Wert von E Einfluß haben, aufgeführt und diskutiert. Zuvor wird nochmals darauf hingewiesen, daß zur Trennung

sowohl der Ionenaustauscher mit seinen Eigenschaften als auch die Komplexbildung der einzelnen Elemente ausgenutzt wird; es ergeben sich daraus besondere Betrachtungsweisen gegenüber den ohne Komplexbildung arbeitenden Austauschvorgängen.

Die Elutionskonstante E eines Elementes ist abhängig von:

Dem jeweiligen Komplex. (Hierin sind nicht nur die verschiedenen Komplexe enthalten, die von verschiedenen Elementen gebildet werden, sondern auch diejenigen, die von ein und demselben Element in verschiedenen Wertigkeiten auftreten. Hinzu kommen ferner Änderungen in der Ligandenzahl in Abhängigkeit von der Säurekonzentration.)

Der Säurekonzentration. (Weil diese nicht nur die Komplexbildung, sondern auch das Verhalten gegenüber dem Austauscher beeinflußt [vgl.[3]].)

Der Konzentration an anderen Komplexen. (Vor allem solchen, die bis zu geringen Säurekonzentrationen stabil sind, weil diese vom Austauscher zuerst adsorbiert werden.)

Der Elementkonzentration. (Die Berücksichtigung der Elementkonzentration und der Ladungszahl des Komplexes bestimmen die Belastbarkeit der verwendeten Austauschersäule.)

Der Fließgeschwindigkeit. (Diese hat bekanntlich Einfluß auf die Ausdehnung der „Adsorptionsbanden" in der Austauschersäule und ist deshalb für die Größe von E mit entscheidend.)

Der Form der Säule. (Obwohl bei Veränderung der Säulendimension die neue Länge d und der neue Querschnitt A mit in Gl. (1) eingehen, ist E nicht für $d \cdot A$ const. bei beliebig veränderter Größe der beiden Faktoren konstant; vielmehr kommt es auf ein bestimmtes Verhältnis von Säulenlänge d zu Säulenquerschnitt A an, das nur in bestimmten Grenzen schwanken darf, wenn E konstant sein soll.)

Der Korngröße des Austauschers.

Der Temperatur.

Dem Alter des Austauschers. (Bezogen auf die Benutzungszeit.)

Dem jeweiligen Austauschertyp.

Mit dieser Aufstellung ist gezeigt, daß Gl. (1) tatsächlich eine vereinfachte Form darstellt. Wenn man zunächst betrachtet, was von der Elutionskonstanten erwartet wird, dann ist es jedoch möglich, auf quantitative Kenntnisse einer Reihe obengenannter Größen zu verzichten.

Zur Prüfung der Möglichkeit und Rentabilität der Trennung von zwei Elementen (z. B. Eisen(III)/Zink) nach dem hier diskutierten Verfahren mit Hilfe eines Austauschers soll durch die Elutionskonstante die Beantwortung folgender Fragen möglich sein:

1. Unterscheidet sich das Verhalten der Chlorokomplexe beider Elemente in Abhängigkeit von der Säurekonzentration genügend, um eine Trennung zu ermöglichen?

2. Welche Säurekonzentration muß gewählt werden, damit im vorliegenden Beispiel das dreiwertige Eisen möglichst ungehindert durch die Säule läuft und das zunächst adsorbierte Zink möglichst fest vom Austauscher gebunden wird?

3. In welchem maximalen Lösungsvolumen darf das Elementgemisch anfallen, ohne ein frühzeitiges Austreten des Zinks aus der Säule bei bestimmten Dimensionen

derselben zu verursachen? (Diese Frage steht im engen Zusammenhang mit der zweiten.)

4. Welche Konzentrationsverhältnisse der Elemente sind für das beabsichtigte Trennungsverfahren tragbar (z. B. Fe/Zn — 1:10, 1:100, 1:1000 oder umgekehrt)?

5. Wie müssen unter Berücksichtigung der Fragen 1—4 und der gegebenen Bedingungen (Lösungsvolumen, Lösungszusammensetzung) die Säulendimensionen tatsächlich gewählt werden?

6. Wie groß ist die günstigste Fließgeschwindigkeit — auch unter Berücksichtigung der Analysenzeit — zu wählen?

7. Wie wird die Elutionskonstante des Zinks von Elementen beeinflußt, die noch stabilere Komplexe als dieses bilden (z. B. Cadmium und Blei)?

Die Beantwortung dieser 7 Fragen genügt fast immer, um auch bei komplizierten Gemischen mehrerer Elemente mit unter Umständen beträchtlichen Konzentrationsunterschieden — wie z. B. in der Spurenanalyse — die Versuchsbedingungen von vornherein festzulegen bzw. einzugrenzen. Es geht jedoch ferner daraus hervor, daß mindestens für die Elemente, deren Chlorokomplexe bei dem Trennverfahren vom Austauscher zunächst adsorbiert werden, die Abhängigkeit der Elutionskonstanten von folgenden Größen quantitativ bekannt sein muß:

1. Von verschiedenen Säurekonzentrationen;

2. von der Säulenlänge d und dem Säulenquerschnitt A (zusammengenommen von der Säulenform), wenn die zum Trennverfahren angewendete Säule beträchtlich von den Dimensionen der Säule abweicht, in der die Elutionskonstanten der einzelnen Elemente bestimmt wurden;

3. von der Fließgeschwindigkeit.

Größenordnungsmäßig muß die Abhängigkeit der Elutionskonstanten bekannt sein von:

1. dem Einfluß von Elementen, die stabilere Chlorokomplexe bilden und die demzufolge besser vom Austauscher adsorbiert werden;

2. dem Einfluß der Konzentrationsverhältnisse der zu trennenden Elemente;

3. der Element- bzw. Komplexkonzentration.

Diese Betrachtungen haben uns veranlaßt, quantitative Messungen für eine Reihe von Elementen durchzuführen, um eine allgemeine Anwendung in der analytischen Chemie zu ermöglichen.

4. Die Elutionskonstanten einiger Elemente.

In Tab. 2 (S. 94, 95) sind die für die Elutionskonstanten am Wofatit L 150 gemessenen Werte aufgeführt und in Abb. 1 (S. 92) in Abhängigkeit von der Säuremolarität graphisch wiedergegeben. (Man beachte den logarithmischen Maßstab der Ordinatenachse.) Man erkennt, daß die Elemente sich teilweise bedeutend in ihrem Verhalten unterscheiden.

Da die Entwicklung von Ionenaustauschern noch in vollem Gange ist, und zudem durch die Quellung des Wofatits, die Querschnitts- und

Längenmessungen der Säule und nicht zuletzt durch den Tüpfelnachweis — der bei jedem Element nicht die gleiche Empfindlichkeit hat — mit einer relativ hohen Fehlergrenze zu rechnen ist, wurde auf die Ausführung von „Präzisionsmessungen" verzichtet.

Bei einem „schleppenden" Austritt des Elementes, d. h. bei flacher Elutionskurve, ist die Bestimmung der Elutionskonstanten relativ ungenau. Das gilt z. B. für Zinn(IV) und Blei bei höheren Säurekonzentrationen. Besonders auffällig ist die Stabilität und starke Adsorption des Bleikomplexes am Austauscher. Genaue Messungen sind hier in 3 m Salzsäure schon nicht mehr ausführbar, da der Austritt eben sehr schleppend vor sich geht. Es werden dazu bis zu 3 l Säure bei 10 cm Säulenlänge benötigt.

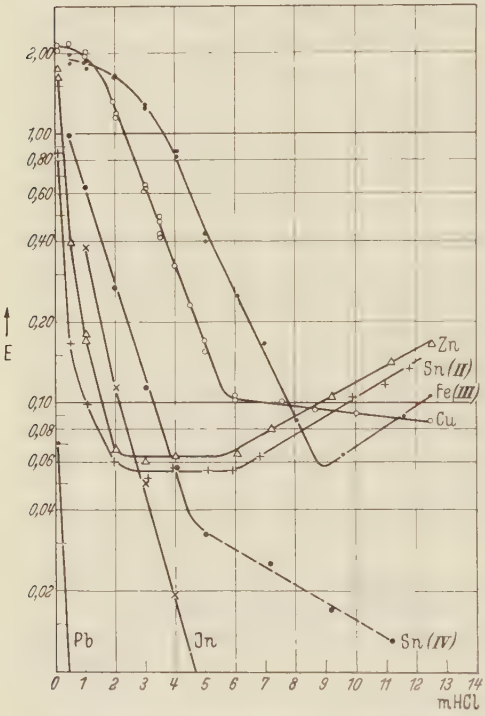


Abb. 1. Die Elutionskonstanten der Elemente Blei, Eisen, Indium, Kupfer, Zinn und Zink in Abhängigkeit von der Säurekonzentration.

Die Werte sind alle nach der vereinfachten Gl. (1) bei bestimmter Einwaage berechnet. Als Volumen V wurde dabei die Säuremenge in ml eingesetzt, die notwendig war, um die „ersten" Spuren des Elementes aus der Säule herauszuspülen. Das entsprach z. B. bei einer Trennung zweier Elemente zunächst den analytischen Belangen, da die Kenntnis des Durchbruches des zweiten Elementes entscheidend für die Trennung ist. Arbeitet man bei Trennungen nach dem Durchlaufverfahren, so genügen die Kenntnisse dieser Elutionskonstanten vollauf. Bei Anwendung des chromatographischen Verfahrens, wo zunächst beide Lösungspartner vom Austauscher adsorbiert sind, ist ebenso die Elutionskonstante der „letzten" Spuren von Bedeutung. Man muß also auch hier unter Umständen die Form der Elutionskurven beachten und kann sich nicht mit Kenntnissen nur über deren Beginn begnügen.

Die komplexchemische Deutung auf Grund des Kurvenverlaufes, z. B. beim Zink, Zinn(II) gegenüber Zinn(IV) sollen einer späteren Mitteilung

vorbehalten bleiben. Auf alle Fälle lassen sich Angaben über die Ligandenzahl und deren Abhängigkeit von der Säurekonzentration machen.

Wie notwendig die Kenntnis quantitativer Werte der Elutionskonstanten für den Erfolg der Trennungen ist und welchen Nutzen man für die Festlegung der Versuchsbedingungen bei Trennungen aus Abb. 1 ziehen kann, soll im folgenden an einigen Beispielen erläutert werden:

1. *Eisen(III) Zinktrennung.* Das Adsorptionsverhalten des Zinks ändert sich von 6 bis zu 3 m Salzsäure herab nur unwesentlich. Im gleichen Gebiet jedoch nimmt die Adsorptionsfähigkeit von Eisen(III) sehr stark ab. Bei der Trennung beider Elemente muß nun — um die Adsorption von Eisen(III) am Austauscher auf ein Minimum zu beschränken — eine möglichst niedrige Säurekonzentration gewählt werden. Diese darf jedoch nicht so niedrig sein, daß die Wanderungsgeschwindigkeit des Zinks so groß ist, daß es frühzeitig aus der Säule austritt, bevor diese frei von Eisen(III) ist. Liegen beide Elemente in einem kleinen Lösungsvolumen vor und ist das Verhältnis zwischen Zink und Eisen nicht allzu groß und/oder liegt ein sehr großer Zinküberschuß vor, dann wählt man besser eine Molarität von 4.

2. *Indium/Bleitrennung.* Bei bestimmten Proben, die unter Verwendung dieses Trennungsprinzips quantitativ auf Indium untersucht werden[4], kann es vorkommen, daß bei der Trennung von Eisen(III) und Indium in 4 m salzsaurer Lösung relativ viel Blei mit vom Austauscher adsorbiert wird. Dieses stört unter Umständen in der nachfolgenden polarographischen Bestimmung wegen seines gegenüber dem Indium unedleren Abscheidungspotentials. In diesen Fällen muß deshalb bei der Elution des Indiums aus der Säule gleichzeitig noch eine weitgehende Trennung vom Blei erreicht werden. Aus Abb. 1 ist zu entnehmen, daß dies bei Verwendung von 0,5—1,0 m Salzsäure am besten möglich ist.

3. *Eisen(III) Indiumtrennung.* Bei einem 600—1000fachen Eisenüberschuß fällt die Ausgangslösung in einem relativ großen Volumen an; weiterhin werden zum Auswaschen der Eisenmenge relativ große Volumina an Säure benötigt. Da das Adsorptionsverhalten des Indiums zwischen 4 m und 2 m Salzsäure stark von der Säurekonzentration abhängt, muß in solchen Fällen mindestens in 4 m salzsaurer Lösung gearbeitet werden.

5. *Die quantitative Abhängigkeit der Elutionskonstanten von verschiedenen Größen.*

Wie zum Teil von uns schon geschildert wurde[2], sind die oben beschriebenen Resultate mit den sich ergebenden Trennungsmöglichkeiten bereits bei der Ausführung von Serienanalysen angewendet worden. Neben der Abtrennung des Indiums von Eisen, Aluminium, Arsen und Blei sind die Eisen/Aluminium-, die Calcium-Magnesium/Kupfer-Blei-Zink- und die Eisen/Zinktrennung in den Analysenverfahren der verschiedenen metallurgischen Produkte — Schlacken, Flugstäube und ähnliches — enthalten.

Da beim analytischen Arbeiten innerhalb metallurgischer Forschungen Änderungen in den Elementkonzentrationen, der Lösungszusammensetzung, dem Lösungsvolumen und auch in den Konzentrationsverhältnissen nicht selten sind, lassen sich die Ionenaustauscher nur dann mit

Tabelle 2. *Übersicht über quantitative Messungen der Elutionskonstanten von 0,1 bis 12,5 m Salzsäure mit Wofatit L 150.*
d = Säulenlänge, A = Säulenquerschnitt, V = Elutionsvolumen.

Lfd. Nr.	Element	Einwaage in mg	Säurekonz. in M	d in cm	A in cm²	V in ml	Elutionskonstanten	
1	Pb	36,0	0,10	12,6	0,55	97,9	0,071	
2			0,50	12,8	0,51	810,0	0,008	
3			2,00	20,2	0,52	4800,0	0,002	0,002
4				15,2	0,51	3700,0	0,002	
5	Fe	36,0	0,51	22,9	0,53	6,1	1,985	1,898
6				14,4	0,56	4,45	1,812	
7			1,01	13,3	0,56	4,0	1,861	
8			1,09	22,2	0,53	6,3	1,870	1,796
9				13,7	0,56	4,45	1,722	
10			1,96	20,8	0,53	6,8	1,620	
11			2,02	13,4	0,56	4,7	1,600	1,631
12				21,3	0,53	6,8	1,662	
13			3,03	13,0	0,56	5,8	1,255	1,263
14				21,1	0,53	8,8	1,270	
15			4,07	15,8	0,58	11,3	0,818	0,840
16				20,0	0,54	12,5	0,862	
17			5,00	15,6	0,51	18,6	0,428	
18			5,09	14,6	0,64	23,6	0,395	
19			6,09	14,4	0,66	38,0	0,250	
20			6,96	13,9	0,67	56,0	0,167	
21			8,07	14,1	0,61	100,0	0,086	
22			9,60	15,0	0,71	167,0	0,064	
23			11,60	14,5	0,61	100,0	0,089	
24			12,50	14,5	0,65	87,0	0,108	
25	In	4,0	1,00	13,5	0,56	20,0	0,377	
26			2,00	12,6	0,54	60,0	0,113	
27			3,00	12,5	0,56	140,0	0,050	
28			4,00	10,8	0,54	310,0	0,019	
29			5,00	10,8	0,56	690,0	0,009	
30	Cu	36,0	0,10	17,1	0,51	4,1	2,110	2,060
31				22,8	0,51	5,8	2,010	
32			0,51	42,6	0,54	10,7	2,160	
33			1,01	44,7	0,54	13,1	1,842	
34			1,03	20,2	0,51	5,2	1,910	1,935
35				14,9	0,51	3,8	1,960	
36			1,96	42,9	0,54	17,6	1,314	
37			2,03	14,7	0,51	6,4	1,164	1,155
38				19,8	0,51	8,8	1,145	
39			2,99	42,4	0,54	37,5	0,610	
40			3,03	19,8	0,51	15,8	0,640	0,636
41				14,8	0,51	11,9	0,632	
42			3,50	19,8	0,51	21,5	0,469	
43				14,9	0,51	18,1	0,419	0,446
44				41,2	0,54	45,5	0,489	
45				10,4	0,51	13,0	0,408	

Tabelle 2. (Fortsetzung.)

Lfd. Nr.	Element	Einwaage in mg	Säurekonz. in *M*	*d* in cm	*A* in cm²	*V* in ml	Elutionskonstanten	
46	Cu	36,0	4,00	10,2	0,55	18,0	0,318	
47			4,50	9,7	0,51	22,0	0,225	
48			5,00	9,7	0,52	33,0	0,154	
49				10,1	0,55	32,0	0,170	0,162
50			6,00	9,7	0,52	50,0	0,104	
51				9,5	0,52	48,0	0,103	0,104
52			7,60	15,3	0,51	77,0	0,101	
53			8,67	13,3	0,54	76,0	0,094	
54			10,06	19,6	0,65	140,0	0,091	
55			12,50	14,4	0,70	117,0	0,086	
56	Sn^{II}	72,0	0,10	16,6	0,52	10,1	0,854	
57			0,51	11,7	0,54	38,0	0,166	
58			1,10	11,8	0,52	62,0	0,099	
59			1,94	10,4	0,54	93,0	0,060	
60			3,04	10,2	0,54	106,0	0,052	
61			3,96	10,0	0,52	92,0	0,057	
62			5,11	10,3	0,54	106,0	0,056	
63			5,90	11,0	0,52	102,0	0,056	
64			6,80	10,7	0,55	93,0	0,063	
66			9,90	11,4	0,52	57,0	0,105	
67			11,0	11,4	0,55	54,0	0,116	
68			11,8	11,1	0,51	42,0	0,136	
69	Sn^{IV}	72,0	0,51	10,2	0,56	5,8	0,985	
70			1,01	11,7	0,52	9,85	0,618	
71			1,99	11,3	0,54	22,8	0,268	
72			3,04	10,4	0,54	49,6	0,113	
73			4,06	10,4	0,52	95,5	0,057	
74			5,02	10,2	0,53	170,0	0,032	
75			7,20	14,2	0,52	300,0	0,025	
76			9,20	14,3	0,52	450,0	0,017	
77			11,20	14,1	0,53	600,0	0,013	
78	Zn	36,0	0,10	22,3	0,52	6,6	1,759	
79				16,7	0,51	5,3	1,605	1,682
80			0,51	22,1	0,52	29,0	0,396	
81				16,3	0,51	22,0	0,378	0,387
82			0,50	10,9	0,51	14,0	0,397	
83			1,00	11,5	0,51	32,0	0,184	
84				11,3	0,52	34,0	0,174	0,179
85			2,00	10,2	0,51	78,0	0,067	
86			3,00	9,4	0,51	80,0	0,060	
87			4,00	10,2	0,52	84,0	0,063	
88			6,07	13,8	0,56	118,5	0,065	
89			7,20	14,5	0,54	98,0	0,080	
90			9,20	14,6	0,54	74,0	0,106	
91			11,20	14,9	0,56	58,0	0,144	
92			12,50	15,6	0,54	50,1	0,168	

Erfolg in der Serienanalyse verwenden, wenn man an Hand einer Reihe von Grundlagenmessungen die optimalen Arbeitsbedingungen — Säulendimensionen, Lösungskonzentration, Lösungsvolumen, Temperatur und Fließgeschwindigkeit — berechnen kann. Aus diesem Grunde wurden die im folgenden geschilderten Messungen ausgeführt.

Für ein rationelles Arbeiten mit Ionenaustauschern ist die Wahl der günstigsten Säulendimension von großer Bedeutung, da hiermit Änderungen sowohl in den vorliegenden Konzentrationen als auch in den Lösungsvolumina kompensiert und die Analysenzeiten (Fließgeschwindigkeit) in gewissem Umfang variiert werden können. Veränderte Säulendimensionen bedeuten jedoch veränderte Auswasch- und Elutionsvolumina. Um diese neuen Volumina bei bekannten Elutionskonstanten nach Gl. (1) berechnen zu können, mußte der Gültigkeitsbereich der Gleichung bei konstantem Säulenquerschnitt A und veränderlicher Säulenlänge d, sowie bei konstanter Länge d und veränderlichem Querschnitt A ermittelt werden.

Schreibt man für diese Untersuchungen Gl. (1) in die Gl. (2a) und (2b) um, so ergibt sich:

$$V = \frac{A}{E} \cdot d = n \cdot d \qquad (2a)$$

$$V = \frac{d}{E} \cdot A = m \cdot A \qquad (2b)$$

Ist bei einer bestimmten Säurekonzentration die Elutionskonstante E bei konstantem Säulenquerschnitt A unabhängig von der Säulenlänge d, dann ist $n = A/E$ eine Konstante und beim Auftragen des Elutionsvolumens V gegen die Säulenlänge d erhält man eine Gerade

Ist weiterhin bei einer bestimmten Säurekonzentration die Elutionskonstante E bei konstanter Säulenlänge d unabhängig vom Säulenquerschnitt A, dann ist ebenfalls $m = d/E$ eine Konstante und beim Auftragen des Elutionsvolumens V gegen den Säulenquerschnitt A ergibt sich wiederum eine Gerade.

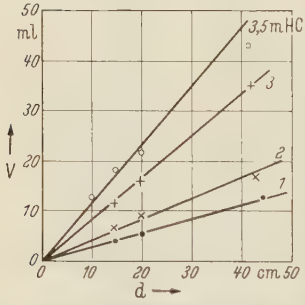


Abb. 2. Abhängigkeit des Elutionsvolumens (der Elutionskonstanten) von der Säulenlänge bei verschiedenen Säurekonzentrationen.

In Tab. 3 sind für 4 verschiedene Säurekonzentrationen bei konstantem Säulenquerschnitt für Kupfer die Elutionsvolumina und die entsprechenden Elutionskonstanten aufgeführt. Abb. 2 zeigt, daß die Werte im V/d-Diagramm befriedigend auf einer Geraden liegen. Daraus ergibt sich, daß für eine bestimmte Säurekonzentration n mindestens bis 40 cm Säulenlänge konstant ist. Da bei einer beliebigen Einwaage und einer bestimmten Säulenlänge d gemessen wird, kann demnach das Elutionsvolumen V für veränderte Säulenlängen bis 40 cm nach Gl. (1) oder (2a) bei derselben Einwaage umgerechnet werden.

Tabelle 3. *Abhängigkeit der Elutionskonstanten von der Säulenlänge bei konst. Querschnitt für 36,0 mg Cu bei verschiedenen Säurekonzentrationen.*

Lfd. Nr.	Salzsäurekonzentration in M	Säulenlänge in cm	Säulenquerschnitt in cm²	Elutionsvolumen in ml	Elutionskonstante E
1	1,005	44,7	0,51	12,4	1,842
2	1,03	20,2	0,51	5,2	1,910
3	1,03	14,9	0,51	3,8	1,960
4	1,96	42,9	0,51	16,6	1,314
5	2,03	19,8	0,51	8,8	1,145
6	2,03	14,7	0,51	6,4	1,164
7	2,99	42,4	0,51	35,2	0,610
8	3,03	19,8	0,51	15,8	0,640
9	3,03	14,8	0,51	11,9	0,632
10	3,50	41,2	0,51	43,0	0,489
11	3,50	19,8	0,51	21,5	0,469
12	3,50	14,9	0,51	18,1	0,419
13	3,50	10,4	0,51	12,5	0,408

Tabelle 4. *Abhängigkeit des Elutionsvolumens vom Säulenquerschnitt bei konst. Säulenlänge und konst. Verhältnis von Wofatitmenge und Einwaage für Cu bei 4,04 m Salzsäure.*
A Säulenquerschnitt, $d^{1,2}$ Säulenlänge, $V_g^{1,2}$ gemessenes Elutionsvolumen, $V_k^{1,2}$ korrigiertes Elutionsvolumen, V_M Mittel aus V_k^1 und V_k^2, T Einwaage, E_M Elutionskonstante aus V_M.

Lfd. Nr.	A	d^1	V_g^1	V_k^1	d^2	V_g^2	V_k^2	V_M	T	E_M
	cm²	cm	in ml		cm	in ml		in ml	in mg Cu	
1	0,26	14,2	15,8	15,6	14,1	15,3	15,2	15,4	19,95	0,232
2	0,47	14,1	27,4	27,2	14,1	26,0	25,8	26,5	36,0	0,236
3	1,40	14,3	77,5	75,9	14,5	76,2	73,6	74,8	110,0	0,262
4	2,60	14,5	159,5	154,0	14,5	150,0	144,9	149,5	205,0	0,244
5	5,40	14,3	315,0	309,0	14,3	327,0	320,0	315,0	420,0	0,240
								Mittel		0,243
								$\text{Mittel}_{\text{graph}}$		0,254
6	13,40	14,8	670,0	634,0	—	—	—	634,0	1252,0	0,296

Desgleichen wurde die Gl. (2b) überprüft; dabei wurden Messungen bei konstanter Säulenlänge und einem von 0,255—13,4 cm² variierten Querschnitt wiederum mit Kupfer bei 4,04 m Salzsäure ausgeführt.

Tab. 4 zeigt die entsprechenden Werte, die sich im V/A-Diagramm ergebende Kurve *a* ist in Abb. 3 (S. 98) wiedergegeben. Kleine Abweichungen in der Säulenlänge wurden nach den oben beschriebenen Versuchen im Elutionsvolumen korrigiert. Das Verhältnis zwischen Einwaage und Austauschermenge wurde konstant gehalten, während die Fließgeschwindigkeit stets 100 ml/Std betrug.

Auch hier ergibt sich, daß mindestens bis zu einem Querschnitt von 6 cm² bei einer bestimmten Säurekonzentration m in Gl. (2b) konstant ist. Der zur Orientierung untersuchte Querschnitt von 13,4 cm² — der ebenso wie eine Säulenlänge über 50 cm hier kaum für analytische Zwecke in Frage kommt — liegt unterhalb der sich im V/A-Diagramm ergebenden Geraden. Damit scheint die Grenze der linearen Abhängigkeit überschritten zu sein.

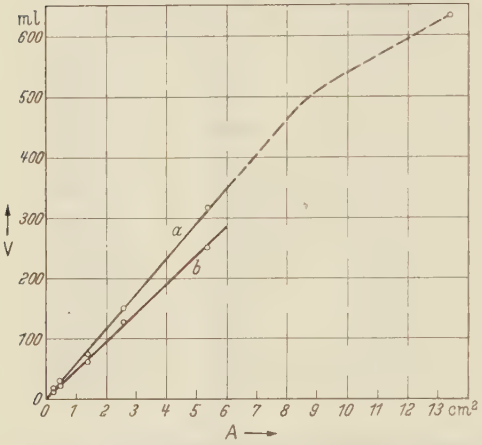


Abb. 3. Abhängigkeit des Elutionsvolumens (der Elutionskonstanten) vom Säulenquerschnitt bei variierter (*a*) und konstanter (*b*) Einwaage für Kupfer in 4 m Salzsäure.

Die Versuche bei konstanter Säulenlänge und verschiedenen Säulenquerschnitten wurden außerdem noch mit einer konstanten Einwaage von 100 mg Kupfer wiederholt. Die entsprechenden Werte sind in Tab. 5 aufgeführt und die Kurve b in Abb. 3 entspricht der graphischen Darstellung. Auch hier erhält man eine Gerade, die allerdings eine geringere Neigung aufweist, woraus der Einfluß der Elementkonzentration hervorgeht.

Tabelle 5. *Abhängigkeit des Elutionsvolumens vom Säulenquerschnitt bei konst. Säulenlänge und mittlerer Einwaage von Cu = 100,0 mg in 4,10 m Salzsäure.*

Lfd. Nr.	Säulenquerschnitt	Säulenlänge	Elutionsvolumen		Elutionskonstante E
			V_g	V_k	
	in cm²	in cm	in ml		
1	0,255	13,9	13,6	13,7	0,261
2	0,47	13,9	21,9	22,1	0,298
3	1,40	14,0	60,1	60,1	0,327
4	2,60	14,2	130,5	128,9	0,283
5	5,40	14,1	255,0	253,5	0,298
				Mittel	0,293
				$\text{Mittel}_{\text{graph}}$	0,292

Mit diesen Meßreihen konnte bewiesen werden, daß eine Berechnung der Elutionsvolumina innerhalb der bei analytischen Anwendungen üblichen Säulendimensionen nach Gl. (1) bei bekannter Elutionskonstante möglich ist.

Neben den Säulendimensionen ist auch der Einfluß der Element- bzw. Komplexkonzentration von Wichtigkeit für die Anwendungsmöglichkeit

der Gl. (1). Die Konzentration selbst ist in dieser Gleichung nicht mit aufgeführt, sie spielt jedoch für die Größe der Elutionskonstanten eine entscheidende Rolle. Kompliziert werden die Verhältnisse dadurch, daß der Einfluß der Komplexkonzentration abhängig ist von der absoluten Größe der Elutionskonstanten, d. h. von der Größe der Adsorption am Austauscher und damit also von der Säurekonzentration.

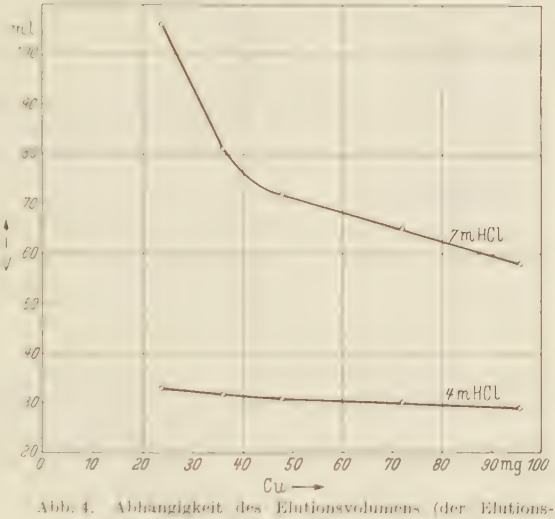


Abb. 4. Abhängigkeit des Elutionsvolumens (der Elutionskonstanten) von der Komplexkonzentration bei Kupfer für 4 und 7 m Salzsäure.

Dies erklärt sich folgendermaßen: Ist die Elutionskonstante E groß, so ist die Wechselwirkung zwischen Komplex und Austauscher klein und demzufolge die Kozentrationsabhängigkeit von E ebenfalls gering. Ist im Gebiet höherer Säurekonzentration die Elutionskonstante klein, so ist die Wechselwirkung zwischen Komplex und Austauscher groß und demzufolge auch die Konzentrationsabhängigkeit beträchtlich. Tab. 6 gibt hierfür Werte, die in Abb. 4 graphisch dargestellt sind.

Tabelle 6. *Einfluß der Komplexkonzentration auf das Elutionsvolumen (Elutionskonstante) bei verschiedenen Säurekonzentrationen für Kupfer.* d Säulenlänge, A Säulenquerschnitt, T Einwaage, V Elutionsvolumen, E Elutionskonstante.

Lfd. Nr.	Säurekonz. in Mol	d cm	A cm²	T in mg Cu	V in ml	E
1	3,97	17,2	0,56	24,0	32,9	0,293
2				36,0	31,2	0,320
3				48,0	30,5	0,316
4				72,0	30,0	0,321
5				96,0	28,4	0,339
6	7,2	15,6	0,56	24,0	106,5	0,082
7	6,95			36,0	81,0	0,108
8	7,2			48,0	71,8	0,113
9	7,2			72,0	65,0	0,125
10	6,95			96,0	58,0	0,150

Für allgemeine Aussagen müssen noch weitere Messungen durchgeführt werden. Es ist jedoch zu erwarten, daß bei den einzelnen Säurekonzentrationen für Komplexe — verschiedener Elemente — gleicher Ladungszahl sich eine gleiche oder zumindest ähnliche Konzentrationsabhängigkeit ergibt.

Tabelle 7. *Abhängigkeit der Elutionskonstanten von der Fließgeschwindigkeit.* Untersucht mit Fe^{III} in 6 m Salzsäure.

Geschwindigkeit in ml/h	Austritt nach ml Säure		
	der ersten Spuren	der maximalen Menge	der letzten Spuren
100	30,0	75,0	215 ± 10
50	35,0	70,0	230 ± 10
25	45,0	67,0	140 ± 10

Die Abhängigkeit der Elutionskonstanten von der Fließgeschwindigkeit wurde mit einer eisen(III)-haltigen, 6 m salzsauren Lösung untersucht. Tab. 7 gibt die gemessenen Werte wieder. Man erkennt, daß die Fließgeschwindigkeit nicht nur Einfluß auf den Austritt der ersten Spuren, sondern auch auf das zur vollständigen Elution benötigte Volumen hat. Unter Berücksichtigung des Zeitbedarfes einer Trennung ist in der analytischen Praxis stets dann unter Inkaufnahme eines größeren Volumens die höhere Fließgeschwindigkeit zu bevorzugen, wenn dadurch nicht der Trenneffekt in Frage gestellt wird. Bei großen Konzentrationsunterschieden zwischen den zu trennenden Elementen soll man ebenfalls eine mittlere Fließgeschwindigkeit anwenden. Soll bei der Elution eine Anreicherung stattfinden, so ist natürlich wiederum eine kleine Fließgeschwindigkeit angebracht.

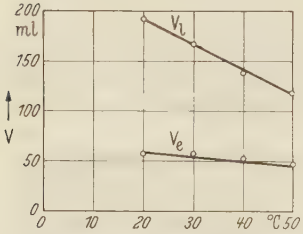


Abb. 5. Abhängigkeit des Elutionsvolumens (der Elutionskonstanten) von der Temperatur für Kupfer in 6 m Salzsäure. V_e Elutionsvolumen der „ersten", V_l Elutionsvolumen für die „letzten" Kupferspuren.

Wie bereits aus der Literatur[1] hervorgeht, wird in salzsaurer Lösung das Gleichgewicht zwischen den Dissoziationsprodukten und den Chlorokomplexen mit steigender Temperatur zugunsten der letzteren verschoben. Das wirkt sich natürlich ebenfalls auf die Elutionskonstante aus. Ähnlich wie bei der Komplexkonzentration ist der Einfluß der Temperatur abhängig von der absoluten Größe von E und damit letzten Endes über die „Adsorptionsfähigkeit" von der Säurekonzentration. Zu beachten ist hierbei jedoch, daß die Temperatur sowohl in das Komplexgleichgewicht (unabhängig vom Austauscher) als auch in das Adsorptionsverhalten zwischen Komplex und Austauscher eingreift.

Von anderer Seite[1] sind bereits Trennungen bei erhöhter Temperatur durchgeführt worden. Obwohl bei Serienanalysen — gleichzeitige Bedienung von 20—30 Säulen — wahrscheinlich der notwendige Aufwand zu groß sein wird, muß auf die unter Umständen mögliche Erhöhung des Trenneffektes bei erhöhter Temperatur hingewiesen werden. Tab. 8 zeigt nämlich, daß in 6 m Salzsäure für Kupfer das Elutionsvolumen V_e für die „ersten" Kupferspuren mit steigender Temperatur abnimmt. Viel stärker jedoch geht das Elutionsvolumen V_1 für die „letzten" Spuren zurück. Abb. 5 zeigt das Verhältnis im $V_1 t°$-Diagramm und läßt erkennen, daß mit steigender Temperatur die Adsorptionsbande — Differenz zwischen V_1 und V_e — kleiner wird. Da mit wachsender Elutionskonstante der Temperatureinfluß auf die Elutionsvolumina V_e und V_1 abnimmt, können bei entsprechenden Elementkombinationen unter Umständen bessere Trenneffekte bei höherer Temperatur erzeugt und zugleich die Analysenzeiten verkürzt werden.

Tabelle 8. *Temperaturabhängigkeit der Elutionskonstanten bei 36,0 mg Cu in 6,0 m Salzsäure.*
Säulenlänge d = 12,0 cm, Säulenquerschnitt A = 0,502 cm².

Lfd. Nr.	Temperatur in ° C	Elutionsvolumen in ml		Elutionskonstante E
		der ersten Spuren	der letzten Spuren	
1	20,0	56,5	192,0	0,107
2	30,0	55,9	162,0	0,108
3	40,0	49,2	136,5	0,123
4	50,0	45,1	116,6	0,134

Tabelle 9. *Übersicht über die bei der Bestimmung der Elutionskonstanten verwendeten Nachweise.*

Lfd. Nr.	Element	Nachweis mit
1	Pb	spektrochemisch, Ammoniumsulfid;
2	Fe	Ammonrhodanid, Kaliumcyanoferrat(II);
3	In	spektrochemisch, Alizarinammoniakpapier;
4	Cu	Cyanoferrat(II), Ammoniumsulfid + Schwefelwasserstoff;
5	Zn	Dithizon;
6	Sn^{II}	Ammoniummolybdat;
7	Sn^{IV}	Schwefelwasserstoff.

6. Durchführung der quantitativen Messungen der Elutionskonstanten.

Bezüglich der ausgewählten Säule wird auf den Säulentyp 2 (in [3]) verwiesen. Als Ionenaustauscher wurde auch hier wieder das Wofatit L 150 in der bereits in[3] angegebenen Körnung verwendet.

Die eigentliche quantitative Messung der Elutionskonstanten wurde folgendermaßen durchgeführt: Das Element wird in Form seines Chlorids in wenig Salzsäure der ausgewählten Molarität gelöst und auf die vorbereitete Säule gegeben. Zuvor muß bei jeder einzelnen Säule der Querschnitt A, das Volumen der Tropfen der ausfließenden Lösung und die Austauscherhöhe d gemessen werden. — Die entsprechende Säure wird in kleinen Portionen aufgefüllt, bis die Komplexlösung ganz in den Austauscher eingedrungen ist. Hierbei stellt man — um eine Adsorption in den obersten Austauscherpartikeln zu gewährleisten — eine kleine Fließgeschwindigkeit ein. Sodann gibt man solange Säure auf die Säule, bis im quantitativ aufgefangenen Eluat erstmalig das Element nachgewiesen werden kann. Die zum Tüpfeln verbrauchten Eluattropfen werden gezählt und ihr Gesamtvolumen zum Eluat addiert. Nach Gl. (1) wird aus den so erhaltenen Werten die Elutionskonstante berechnet. Tab. 9 (S. 101) gibt eine Zusammenstellung der einzelnen verwendeten Tüpfelreaktionen.

Zusammenfassung,

Für die Elemente Blei, Eisen, Indium, Kupfer, Zinn(II), Zinn(IV) und Zink wurden die Elutionskonstanten von 12,5—0,1 m Salzsäure quantitativ gemessen und die Vorteile für Trennungen, die sich aus diesen Kenntnissen ergeben, diskutiert. Ferner wurden die ersten Ergebnisse der Untersuchungen über die Abhängigkeit der Elutionskonstanten von der Säulenlänge, dem Säulenquerschnitt, der Elementkonzentration, der Fließgeschwindigkeit und der Temperatur zusammengestellt und besprochen.

Die qualitativen Untersuchungen über das Adsorptionsverhalten am Wofatit L 150 wurden auf die Elemente Antimon (III), Chrom (III), Gallium und Wismut (III) ausgedehnt.

Ein Überblick über die bisherigen Untersuchungen erlaubt folgende Bemerkungen: Die Elutionskonstante ist eine sehr brauchbare Größe, mit der nach Gl. (1), vor allem bei Anwendung der Trennungen in der Serienanalyse, die Arbeitsbedingungen gut vorausberechnet werden können. Von den Säulendimensionen ist nach den durchgeführten Messungen die Elutionskonstante innerhalb der in der analytischen Chemie gebräuchlichen Größen unabhängig. Die Abhängigkeit von der Komplexkonzentration, der Temperatur und der Fließgeschwindigkeit können noch nicht exakt rechnerisch erfaßt werden. Die vorliegenden Ergebnisse gestatten jedoch für eine Reihe von Elementtrennungen die besten Versuchsbedingungen auszuwählen. Die Untersuchungen werden fortgesetzt.

Für die exakte Ausführung der Messungen danken wir den Herren W. Kretzschmar und S. Pietsch.

Literatur.

[1] Blasius, E., u. M. Negwer: Naturwissenschaften **39**, 257 (1952). — [2] Jentzsch, D.: Chem. Techn. **7**, (1955) (im Druck). — [3] Jentzsch, D., u. I. Frotscher: diese Z. **144**, 17 (1955). — [4] Jentzsch, D., u. Mitarb.: diese Z. **144**, 8 (1955). — [5] Kraus, K. A., and G. E. Moore: J. Amer. chem. Soc. **75**, 1460 (1953); vgl. diese Z. **145**, 34 (1955). — [6] Moore, G. E., and K. A. Kraus: J. Amer. chem. Soc. **74**, 843 (1952).

Dr. D. Jentzsch, Dresden A 53, Mendelssohn-Allee 26.

Aus dem Chemischen Institut der Hochschule in Bamberg.

Komplexcolorimetrie Seltener Erden*.

Von

LUDWIG HOLLECK, DIETRICH ECKARDT und LUDWIG HARTINGER.

Mit 4 Textabbildungen.

(Eingegangen am 22. Februar 1955.)

Reihenbestimmungen von Seltenen Erden veranlaßten uns, eine quantitative Methode auszuarbeiten, die schnell durchzuführen ist und möglichst geringe Konzentrationen zu erfassen gestattet.

Die empfindlichste Methode, wenn man von den Emissionsspektren absieht, ist der Nachweis der Seltenen Erden (SE) durch Bildung eines Farblackes. Wir stellten Untersuchungen an, ob es möglich ist, an Stelle der im allgemeinen schwer löslichen Farblacke gefärbte Lösungen zu erhalten, die auch geeignet sind, für eine quantitative colorimetrische Bestimmung der SE herangezogen zu werden. Eine Voraussetzung hierfür ist die Gültigkeit des LAMBERT-BEERschen Gesetzes in einem entsprechend weiten Bereich. Wie wir bereits kurz mitteilten[1], ließ sich dieses Ziel durch Bildung von Farbkomplexen erreichen. Wir gingen von der Überlegung aus, daß farblackbildende organische Verbindungen in Gegenwart von Komplexbildnern Farbkomplexe von SE geben können, die unter Umständen die gewünschten analytisch auswertbaren Eigenschaften besitzen. Die Erfahrung, daß man durch Komplexbildung in der Lage ist, auch in ammoniakalischen Lösungen die Ausfällung eines Farblacks zu verhindern, haben wir schon früher gemacht. So galt es, eine Kombination von Komplex- und Farblackbildnern zu finden, bei der die Voraussetzung am besten erfüllt ist, die zu einer möglichst intensiven und beständigen Färbung führt, wobei die Farben mit und ohne SE so weit voneinander verschoben sind, daß eine photometrische Bestimmung möglich ist.

Unter 20 untersuchten Komplexbildnern erwies sich die Sulfosalicylsäure (SSS) als nahezu die einzige, mittels derer eine farbige Lösung erhalten werden konnte, und unter 13 farblackbildenden Stoffen war es die Aurintricarbonsäure (ATC), die die oben geforderten Bedingungen am besten erfüllte. Abb. 1 (S. 104) zeigt die Absorptionsbanden einer neutralen ATC-Lösung (———) und der gleichen Lösung nach Hinzufügen von NH_4OH (— — — —) zwischen 4000 und 6000 Å. Das Absorptionsmaximum wird hierbei vom sichtbaren Blau in das UV-Gebiet ver-

* Teil eines Beitrages zur KRAFT-Festschrift der Hochschule Bamberg 1953.

schoben. In der Durchsicht haben diese Lösungen rote bzw. gelbe Farbe. Was die günstigsten Konzentrationsverhältnisse anbelangt, so müssen Sulfosalicylsäure und Aurintricarbonsäure den SE gegenüber im Überschuß vorhanden sein, da das Lambert-Beersche Gesetz nur dann

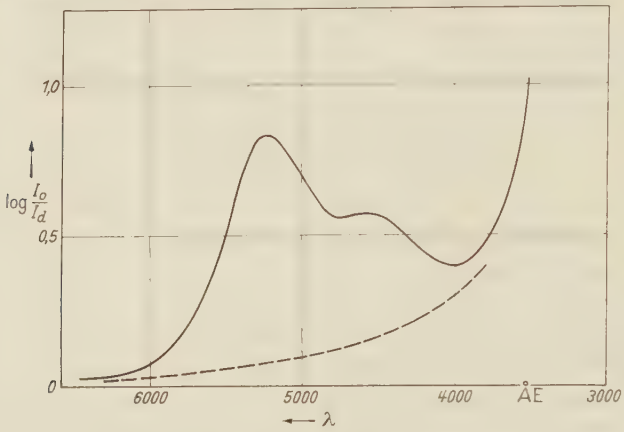


Abb. 1. Absorptionsbande der Aurintricarbonsäure bei 5000 Å in neutraler (———) und ammoniakalischer (— — —) Lösung.

Gültigkeit erlangen kann, wenn die Umsetzung der SE zu dem zu colorimetrierenden Stoff praktisch vollständig — gemäß dem Massenwirkungsgesetz — erfolgt. Die Farbintensität der Gesamtlösung ist sowohl von der ATC-Konzentration als auch von größeren SSS-Konzentrationsunterschieden abhängig. Die Vertiefung der Farbe ist schon bei

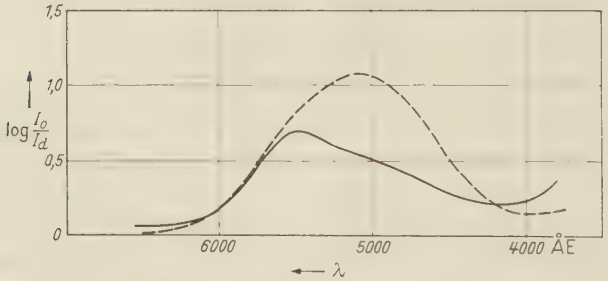


Abb. 2. Bande des Farblackes (———) und des Farbkomplexes (— — —).

relativ geringen Zugaben von ATC merklich, während es einer beträchtlichen Erhöhung der SSS-Konzentration bedarf, um eine sichtbare Abnahme der Farbintensität zu bewirken.

Wie aus Abb. 2 hervorgeht, handelt es sich nicht etwa um 2 Komplexsysteme (mit SSS einerseits und ATC andererseits), die miteinander im

Gleichgewicht stehen, sondern, wie die Absorptionsbanden des Farblackes (————) und der gleichen Lösung bei Gegenwart von SSS (— — — —) zeigen, um die Bildung eines dritten Komplexes. Darauf

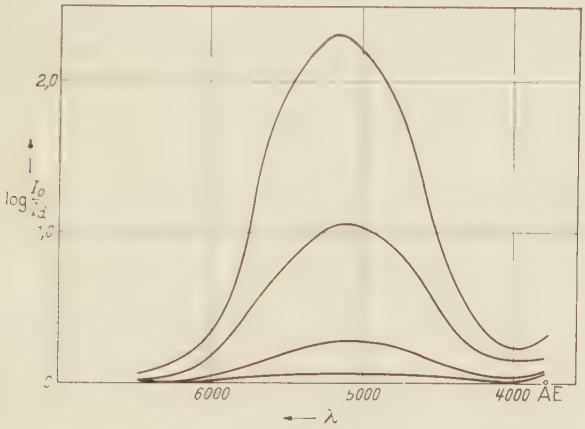


Abb. 3. Absorptionsbande des La-Farbkomplexes in ammoniakalischer Lösung bei Steigerung der La-Konzentration jeweils um den Faktor 2.

weisen die beiden Kurven hin, und zwar 1. durch die Verschiebung der Maxima und 2. durch die größere Extinktion der SSS-haltigen Lösung (die bei einem Gleichgewicht zweier Komplexe zwischen SE-ATC und SE-SSS kleiner sein müßte). Aus Abb. 2 ergibt sich eine Erhöhung der Empfindlichkeit durch die Bildung des neuen Komplexes gegenüber dem Farblack um etwa ein Drittel. Die beiden Aufnahmen wurden bei einer Konzentration von $2{,}5 \cdot 10^{-4}$ m SE gemacht, bei der der Farblack bei Anwesenheit von SSS gerade ausfällt.

In Abb. 3 sind die Absorptionsbanden bei verschiedenen SE-Konzentrationen wiedergegeben, gemessen gegen eine Vergleichslösung ohne SE. Durch Auswertung der einzelnen Flächen (Gesamtextinktion $= \log \frac{I_0}{I}$), etwa durch Planimetrieren, und Auftragen gegen die SE-Konzentration, erhält man die Abhängigkeit der Extinktion von der Konzentration entsprechend Abb. 4. Das Lambert-Beersche Gesetz ist also für den vermessenen Bereich

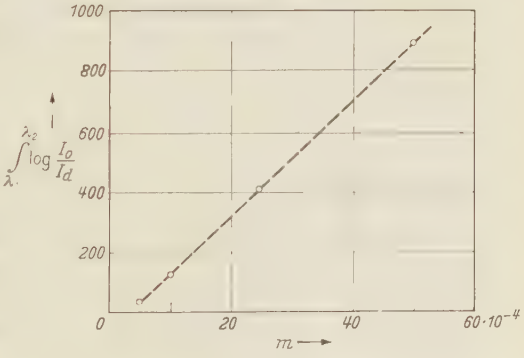


Abb. 4.
Konzentrationsabhängigkeit der Gesamtextinktion.

hinreichend genau gültig. Auf diese Weise lassen sich Konzentrationen bis zu 6 μg/ml herunter quantitativ bestimmen. Der Analysenfehler liegt unter 10%.

Die Reproduzierbarkeit war anfangs in Frage gestellt, da die frisch hergestellte ATC-Lösung, ebenso wie ATC-haltige Komplexlösungen, ihre Farbintensität mit der Zeit änderten. Zuerst wurde der dadurch entstandene Fehler durch Messen auf Zeit ausgeschaltet, später alterten wir durch kurzes Erhitzen, so daß die Werte bei sofortiger Messung reproduzierbar wurden.

Der uns interessierende Konzentrationsbereich lag zwischen 10^{-4} und 10^{-5} m SE. Dieser Wert läßt sich natürlich nach oben- und untenhin ausweiten, indem man die Konzentrationen an SSS und ATC variiert, nach oben durch Erhöhung der SSS-Konzentrationen oder durch Verdünnen, nach unten durch die Erhöhung der ATC-Konzentration. Einfacher als mit dem Spektralphotometer läßt sich die ganze Bestimmung mit einem Photometer (Colorimeter) unter Vorschaltung des für den Bereich 4000—6000 Å durchlässigen Filters (grüngelb) durchführen, unter sofortiger Messung der Gesamtextinktion.

Diese Methode, die sich grundsätzlich für alle farblackbildenden Kationen anwenden läßt, bezeichnen wir als „*Komplexcolorimetrie*".

Experimentelles.

Probelösungen von 10^{-4} bis 10^{-5} m SE wurden in einem Meßkölbchen mit den nötigen Mengen von SSS- und ATC-Lösungen versetzt, (der SSS-Überschuß betrug das 10fache, der ATC-Überschuß das 5fache der höchstens untersuchten SE-Konzentration), kurz erhitzt, bis die ersten Blasen aufstiegen, erkalten gelassen und zur Marke aufgefüllt. Die anschließende spektralphotometrische Messung (Unicam-Spektralphotometer) in einer Küvette von 1 cm Schichtdicke erfolgte durch punktweise Registrierung zwischen 4000 und 6000 Å (Wolframlampe, blauempfindliche Photozelle). Eine Messung dauert 4—5 min. Die Auswertung der Meßdaten zur Bestimmung der Gesamtextinktion bzw. der Konzentration wurde nach einer der üblichen Methoden vorgenommen.

Zur Messung kleinerer SE-Gehalte durch Erhöhung der ATC-Konzentration ist es notwendig, eine entsprechende Eichkurve aufzustellen; für die Messung höherer SE-Konzentrationen verdünnt man zweckmäßig zu dem normalen Meßbereich.

Menge und Konzentration der Lösungen zur Aufstellung der Eichkurve:

0,5 ml 0,25 „	0,01 m La-Lsg.	+ 5 ml 0,01 m SSS + 1 ml 0,025 m ATC
0,1 „ 0,05 „	bzw. 0,001 m La-Lsg.	+ 1 ml Ammoniak werden auf 10 ml aufgefüllt.

Herstellung der La-Lösung. Man löst 4,58 g $La_2(CO_3)_2$ in wenig Salzsäure, entfernt die überschüssige Salzsäure vorsichtig auf dem Wasserbad, löst die Chloride und füllt auf 100 ml auf. Aus dieser 0,1 n La-Lösung werden 0,01 n und 0,001 n La-Lösungen durch Verdünnen hergestellt.

Zusammenfassung.

Es wird ein „komplexcolorimetrisches" Verfahren zur Bestimmung von Seltenen Erden beschrieben. Bei Gegenwart von Komplexbildnern kann die Ausfällung von Farblacken verhindert werden. Bei geeigneten Konzentrationsverhältnissen ergeben sich Bereiche, in denen das Lambert-Beersche Gesetz erfüllt ist. Es lassen sich noch Mengen bis zu $6 \cdot 10^{-6}$ g/ml Seltener Erden erfassen.

Literatur.

[1] Holleck, L., L. Hartinger u. D. Eckardt: Angew. Chem. **65**, 347 (1953); vgl. diese Z. **142**, 385 (1954).

Prof. Dr. L. Holleck, Bamberg, Concordiastraße 28.

J. V. D. College of Science and Technology, Andhra University, Waltair (South India).

Colorimetric Estimation of Thorium with Carmine Red.

By

N. Eswaranarayana and Bh. S. V. Raghava Rao.

With 5 figures in the text.

(Eingegangen am 23. Februar 1955)

In the course of a search for a reagent suitable for the estimation of thorium in the presence of cerite earths and small amounts of uranium, it has been found that the reddish orange water soluble dye carmine red answers these requisites to a fair degree. As little as 8 μg of ThO_2 per ml. may be estimated. The presence of a nearly 20 fold excess of cerite earths and a 5 fold excess of UO_2^{++} makes no difference.

Experimental.

The dye with the formula $C_{11}H_{12}O_7$ has a molecular weight of 256.10. A solution 5.322×10^{-4} Molar was prepared on this basis.

A stock solution of thorium nitrate was prepared containing 0.1342 gm. of thoria per litre or 5.084×10^{-4} Molar.

On mixing the two solutions, a violet complex results, which does not change colour in the course of 48 hours. The colour of the complex as well as the reagent is subject to changes of p_H. Firstly 10 ml. of the reagent were diluted to 50 ml. at appropriate p_H and secondly 10 ml. of the reagent together with 5 ml. of thorium solution were similarly diluted and the absorptions were measured against water in matched 10 ml. optical path corex glass cells in a Beckman D.U.-Spectrophotometer. Between p_H 1.2 and 4.5 the reagent shows no specific changes in

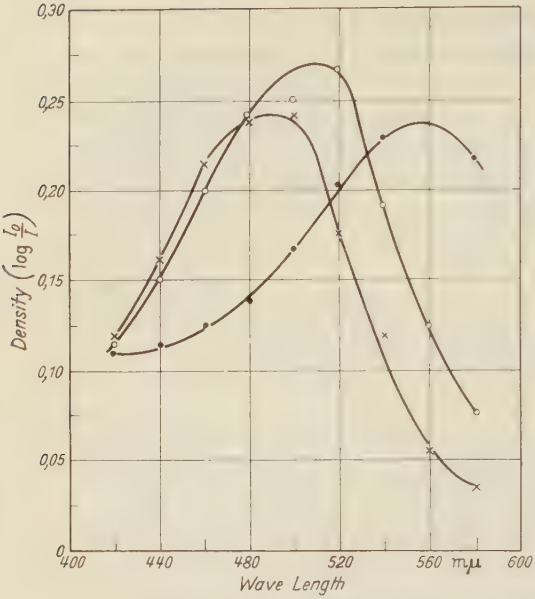


Fig. 1. Absorption Curves. • Carmine Red-Th complex at p_H 2.58. × Reagent at p_H 2.5 ○ Reagent at p_H above 5.75.

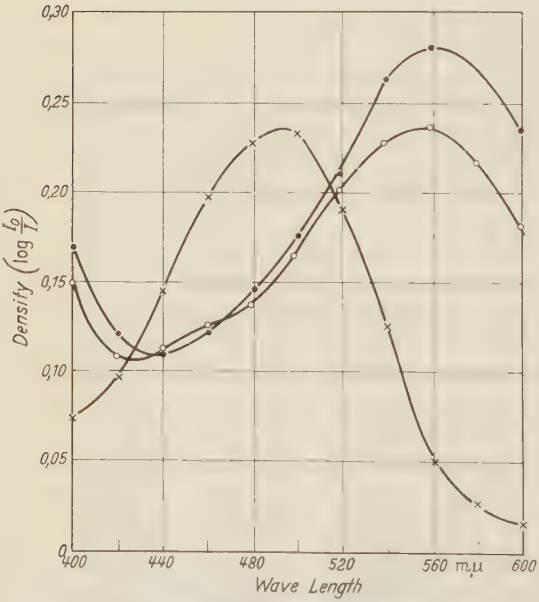


Fig. 2. Absorption Curves of the Carmine Red-Th complex. × at p_H 1.25. ○ at p_H 2.5—3.2. • above p_H 7.98.

absorption. There is a general intensification of absorption with rise in p_H; a rather diffuse peak lies around 500 mμ. When a p_H of 5.75 is reached, however, the character of absorption changes and a sharp peak at 520 mμ develops. Below 480 mμ however no significant variations occur with p_H.

The complex shows signs of formation at p_H 1.65 and appears to attain its maximum intensity at p_H 4.2. This p_H is indeed high and interference from cerite earths shows itself. A more careful scruting of the curves and further investigation revealed that the apparent rise in intensity of absorption of the complex from 3.5 to 4.2 arose from the reaction of the dye to the increased p_H.

Complexation brings about a two fold change in the absorption of the dye. While the absorption at 500 mμ decreases with increasing formation of the complex, a new maximum at 560 mμ developes. A p_H of 2.5 was thus selected for further studies and the wavelength 560 mμ. (See also Fig. 1 and 2.)

Beers *law*. The reagent obeys Beers law upto fairly high concentrations, ie., 0.13 mg. per ml. of solution. A standard curve (Fig. 3) for the estimation of thorium was obtained from the densities at 560 mμ of mixtures of 10 ml.

of the reagent with varying amounts of thorium diluted to 50 ml. Two test estimations with known amounts of thorium are shown below (table 1).

Table 1. *Test estimation of Thorium.*

Weight of ThO_2 taken mg	Density of complex	Weight found by interpolation mg	Difference in mg.
0.1006	0.1085	0.1040	+ 0.0034
0.1627	0.1420	0.1693	+ 0.0016

Interferences. The following elements have been studied quantitatively. 10 ml. of reagent were complexed with 2 ml. of thorium solution at p_H 2.6

Fig. 3. Calibration Curve at Wave length 560 mμ.

and diluted to 50 ml. The density of this solution was compared with a similar solution to which were added individually the recorded amounts of impurities (table 2).

Table 2. *Density of thorium complex 0.190.*
Wt. of ThO_2 = 0.2684 mg.

Impurity	Amount added mg.	Density of the resultant soln.	Difference in density
Cerite earths as corresponding nitrates to R_2O_3	5.41	0.195	+ 0.005
Uranyl nitrate corresponding to U_3O_8	1.35	0.197	+ 0.007
Ferric nitrate corresponding to Fe_2O_3	0.3	0.235	+ 0.045
Ferric nitrate with Sn	0.3	0.200	+ 0.010

It is readily seen that with the exception of ferric iron other impurities do not interfere. Common elements like Ca, Mg have also been found not to interfere.

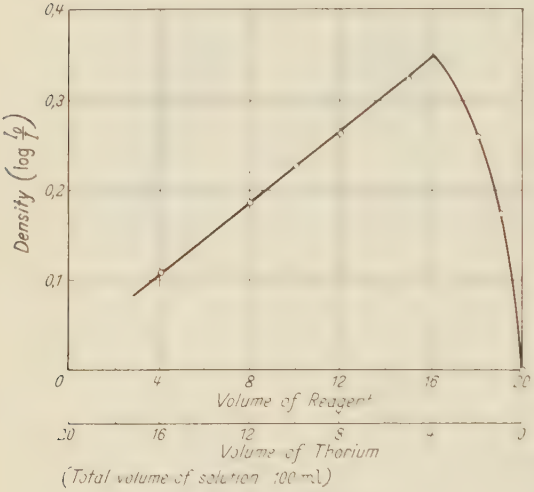


Fig. 4. Jobs Method.

Composition of the complex. Jobs method of continuous variations with the original solutions in complementary volumes of 20 ml. (Fig. 4) gives a stoichiometric ratio of 1 : 4.25 between thorium and the reagent or 1 : 4. The complex appears to be very stable and but little dissociated at this pH. The very sharp maximum in the figure suggests this. Further studies in which varying amounts of thorium were complexed with a 10 fold excess of the reagent and always diluted to the same volume of 100 ml. have confirmed this view. The densities of these solutions plotted as ordinates against the volume of thorium gave a straight line (Fig. 5)

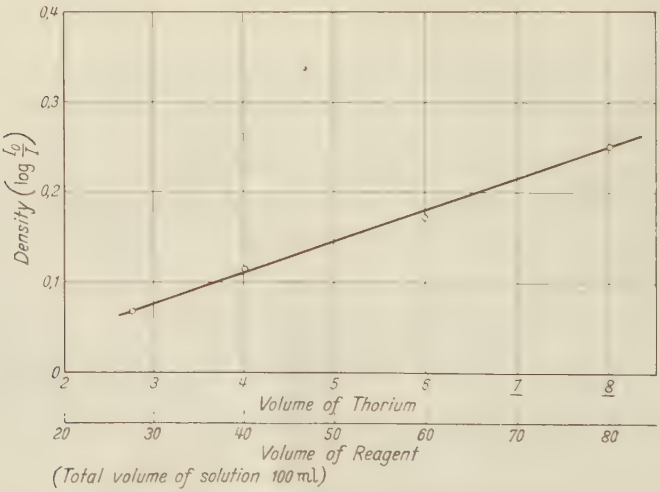


Fig. 5. Stability of the Complex Dissociation Curve.

in the range 2.75—8.0 ml. of thorium solution — a three fold change in concentration. If dissociation should occur to any appreciable extent, a non-linear relationship would show itself.

Abstract:

The use of carmine red as a colorimetric reagent for thorium in presence of a 20 fold excess of cerite earths or a 5 fold excess of uranyl salts is described. p_H of 2.5 and the wavelength 560 mμ were found most suitable. The ratio of thorium to reagent in the complex is shown to be 1:4 from spectrophotometric data. It is also shown that the complex dissociates little under these conditions.

Prof. BH. S. V. RAGHAVA RAO, Chemistry Department, Andhra University, Waltair (South India).

Aus dem Laboratorium der Luossavaara-Kiirunavaara Aktiebolag, Kiruna C (Schweden).

Bestimmung von Phosphor als Chinolinphosphormolybdat.

Vereinfachte Fällung von Chinolinphosphormolybdat mit einem einzigen Fällungsreagens.

Von

UNO FERNLUND und SEPP ZECHNER.

(Eingegangen am 28. Februar 1955.)

In unserer ersten Mitteilung[3] wurde eine P-Bestimmungsmethode beschrieben, die besonders bei kleinen P-Mengen allen bisherigen gravimetrischen und volumetrischen P-Bestimmungsmethoden an Genauigkeit, Einfachheit und Zeitersparnis überlegen sein dürfte. Phosphor wird in salzsaurer Lösung mit 2 Reagentien — Natriummolybdat und Chinolinhydrochlorid — als Chinolinphosphormolybdat gefällt und danach volumetrisch bestimmt.

Bei der Ausfällung von Ammoniumphosphormolybdat wird der zu analysierenden Probelösung eine Ammonium- und Molybdat-Ionen enthaltende saure Lösung zugesetzt. Es war daher naheliegend zu untersuchen, ob man auf ähnliche Weise eine Reagenslösung herstellen kann, die sowohl Chinolin als auch Molybdat enthält. Während unserer Versuche erwies es sich, daß eine solche Lösung dann stabil ist, wenn die Salzsäurekonzentration mindestens 1 molar ist. Bei niedrigeren Säurekonzentrationen bildet sich eine Fällung, die wahrscheinlich aus Molybdänsäure besteht. Für unsere Methode wählten wir eine etwa 5 molar salzsaure Reagenslösung, die wir in Hinkunft Chinolinmolybdatlösung, oder abgekürzt CHIMO-Lösung, nennen.

Bei unseren Versuchen zur Herstellung von CHIMO-Lösungen zeigte es sich, daß man unter gewissen Bedingungen leicht sehr schöne, farblose

nadelförmige Kristalle erhalten kann, möglicherweise Chinolinhydrogenmolybdat, die bei Auflösung in entsprechend starker Salzsäure eine brauchbare CHIMO-Lösung ergeben.

Nachdem wir eine entsprechende Reagenslösung zur Verfügung hatten, untersuchten wir u. a. den Einfluß des Säuregrades der Probe, der Temperatur vor, bei oder nach der Ausfällung von Chinolinphosphormolybdat, sowie der Menge zugesetzter CHIMO-Lösung. Aus den Versuchen ging hervor, daß Chinolinphosphormolybdat quantitativ ausfällt, wenn die Probelösung vor dem Zugeben der CHIMO-Lösung zwischen 0,9 und 1,6 molar salzsauer ist. Die Temperatur hat keinen Einfluß auf die Vollständigkeit der Ausfällung, doch wird die Fällung leichter filtrierbar, wenn die Ausfällung in der Nähe des Kochpunktes geschieht, oder wenn die Fällung nach dem Zusatz der CHIMO-Reagenslösung bis in die Nähe des Kochpunktes erhitzt wird. Auch die Menge der zugesetzten CHIMO-Lösung hat keinen Einfluß auf die Ausfällung von Chinolinphosphormolybdat.

Der Einfluß von Vanadium auf die P-Bestimmung.

Es ist allgemein bekannt, daß fünfwertiges Vanadium die Ausfällung von Ammoniumphosphormolybdat stört. Verschiedene mehr oder weniger umständliche Methoden zur Verhinderung von Analysenfehlern durch Vanadium-Ionen sind in der Literatur angegeben[1, 2, 5].

Wir fanden es sehr beachtenswert, daß Vanadin die Phosphorbestimmung mit Chinolinmolybdat absolut nicht stört, wenn man den in der Arbeitsvorschrift angegebenen Analysengang einhält. Beim Lösen der Fällung in Lauge bei der anschließenden volumetrischen Bestimmung muß jedoch ein Überschuß von mindestens 7 ml 0,05 m NaOH-Lösung zugesetzt werden, damit eine vollständige Reaktion der MoO_3- mit den OH-Ionen gewährleistet ist. Auch andere in schwedischen Eisenerzen gewöhnlich enthaltene Elemente beeinflussen die P-Bestimmung nach der hier beschriebenen Methode nicht.

Als Beispiel für die Zuverlässigkeit der Methode können wir eine Versuchsreihe von 27 Proben eines P-Standard-Eisenerzes, 0,013% Phosphor enthaltend, anführen. Diese mit Vanadiummengen von 0—0,7% versetzten Proben ergaben bei der P-Bestimmung einen Durchschnittsfehler von nur $\pm$ 0,00014% P. Der größte Anteil dieses Fehlers ist im Ablesungsfehler der Bürette zu suchen, deren garantierte maximalen, systematischen Fehler 0,0001% P entsprechen.

Arbeitsvorschrift.

Reagentien. CHIMO-Lösung: 250 g $Na_2MoO_4 \cdot 2H_2O$ werden in 500 ml dest. Wasser gelöst und mit 460 ml konz. Salzsäure und einem Tropfen 30%igem Wasserstoffperoxyd versetzt. 28 ml Chinolin werden in 600 ml Salzsäure 1:1 gelöst. Beide Lösungen werden ineinander übergeführt, kurz aufgekocht und nach frühestens 24 Std in eine Plast- oder Resistentglasflasche filtriert.

Konz. Salzsäure. — 1 m Salzsäure als Waschlösung. - Kaliumchloratlösung: 60 g $KClO_3$ werden in 1 Liter warmem Wasser gelöst. — HCl- und NaOH-Standardlösungen. Diese werden so justiert, daß 1 ml Lauge immer exakt 1 ml Säure entspricht. — Indicatorlösung: 0,4% Phenolphthalein in 95%igem Alkohol.

Ausführung der Analyse.

Die Probe, in der Phosphor in fünfwertiger Form vorliegen soll, wird mit entsprechend viel Salzsäure versetzt, bis die Säurekonzentration 0,9—1,6 molar ist. Nach Zugabe von einigen Tropfen Chloratlösung erhitzt man zum Kochen und versetzt die heiße Probe mit 10 ml (bei mehr als 15 mg P mit 20 ml) CHIMO-Lösung. Die dadurch entstandene gelbe kristalline Fällung wird abfiltriert, zuerst mit 1 m Salzsäure, danach mit dest. Wasser gewaschen und mit 60—100 ml Wasser in einen Titrierkolben übergeführt. Bei größeren Mengen Chinolinphosphormolybdatniederschlag empfiehlt es sich, die Fällung mit Wasser zu schütteln, da ansonsten kleine Mengen Fällung in Natronlauge ungelöst bleiben können. Ein späteres Schütteln, nach erfolgtem Laugenzusatz, erwies sich als ziemlich erfolglos. NaOH-Standardlösung wird nun in genügendem Überschuß aus einer Bürette zugesetzt und mit Säure gegen Phenolphthalein zurücktitriert.

Ausführung der Analyse von schwedischem Eisenerz bei niedrigerem P-Gehalt.

4 g feingemahlene Erzprobe werden in einem 150 ml Becherglas mit Deckglas mit 13 ml konz. Salzsäure versetzt. Nach kurzem Aufschlämmen durch Schwenken des Becherglases wird die Probe vorsichtig mit etwa 1 ml Chloratlösung oxydiert, durch einen Papiermassefilter in einen 300 ml-Erlenmeyer-Kolben filtriert und mit heißem Wasser gewaschen. Das Filtrat (ungefähr 100 ml) erhitzt man zum Kochen und versetzt es mit 10 ml CHIMO-Lösung. Die entstandene Fällung wird wie oben beschrieben weiterbehandelt.

Für eine P-Bestimmung in Magnetit bei Gegenwart von Vanadium benötigt man nach der hier beschriebenen Methode etwa 8 min bei einer Reproduzierbarkeit von $\pm$ 0,001% P.

Falls die Phosphorbestimmung in Eisenerz keine allzu große Genauigkeit der Analysenwerte erfordert, kann man die Methode durch Weglassen der ersten Filtrierung und des Aufkochens bei der Fällung bedeutend vereinfachen. In vielen Fällen kann man auf diese Weise eine komplette P-Bestimmung (vom Einwägen der Erzprobe bis zum Registrieren des P-Wertes) in 4 min durchführen[4].

Unsere Methode fand auch für die qualitative Bestimmung von Phosphor in Erzbergwerken und Erzlagerplätzen Verwendung[1]. Hierbei kamen zwei Verfahren zur Anwendung, je nach der am Untersuchungsplatz herrschenden Temperatur. Bei Temperaturen über 20° C wird eine

CHIMO-Lösung direkt auf das Erz gesprüht, dessen Oberfläche sich dann gelb färbt, wenn Phosphor in größerem Maße im Erz vorkommt. Bei tieferen Temperaturen dagegen legt man einige kleine Erzstücke in eine Proberöhre mit einer CHIMO-Lösung, die sodann durch Halten in der geschlossenen Hand etwas erwärmt wird.

Versuche mit einer gravimetrischen P-Bestimmungsmethode sind im Gange. Die Resultate dieser Versuche werden in einer späteren Arbeit in dieser Zeitschrift mitgeteilt.

Zusammenfassung.

Eine einfache Methode wurde ausgearbeitet, bei der Phosphor als Chinolinphosphormolybdat bestimmt wird. Die Methode ist besonders bei niedrigen Phosphorgehalten und in Gegenwart von fünfwertigem Vanadium zu empfehlen. Eine Reihe von Arbeitsbereichen, in denen die Methode Anwendung findet, wird angegeben.

Literatur.

[1] A.S.T.M., Chemical analysis of metals, S. 50, A.S.T.M., Philadelphia 1946. — [2] Charlot, G., et D. Bézier: Méthodes modernes d'analyse quantitative; Minérale, S. 534. Paris: Masson et Cie. 1949. — [3] Fernlund, U., S. Zechner u. T. Andersson: diese Z. **138**, 41 (1953). — [4] Fernlund, U., S. Zechner u. R. Olofsson: Jernkontorets Ann. (im Druck). — [5] Handbuch für das Eisenhüttenlaboratorium, Bd. I, S. 36. Düsseldorf: Stahleisen G.m.b.H. 1939.

Luossavaara Kiirunavaara Aktiebolag, Laboratoriet, Kiruna C, Schweden.

Bericht über die Fortschritte der analytischen Chemie.

III. Chemische Analyse organischer Stoffe.

2. Qualitative und quantitative Analyse.

Die Bestimmung von Mikromengen Cyanid gründen O. A. Ohlweiler und J. O. Meditsch[1] auf die Reaktion von zweiwertigem Quecksilber mit p-Dimethylaminobenzalrhodanin, wobei eine gefärbte Verbindung entsteht. Die Bedingungen für die Anwendbarkeit der Reaktion werden untersucht. Durch Cyanid-Ionen, die mit Hg^{II} eine nicht dissoziierte Verbindung bilden, wird ein entsprechender Teil des Quecksilbers der Farbreaktion entzogen, und dieser ist ein Maß für das vorhandene Cyanid. Um Störungen durch andere Salze zu vermeiden, wird das Cyanid durch Mikrodiffusion abgetrennt und von einer $Hg(NO_3)_2$-Lösung aufgenommen. Nach dieser Methode können Cyanidmengen bis zu maximal 6 μg CN /2 ml mit einer Genauigkeit von 0,02 0,05 μg bestimmt werden. — *Ausführung.* In den äußeren Teil eines Conway-Gefäßes werden 2,500 ± 0,005 ml der Lösung mit etwa 3 μg CN^-/ml und in den inneren Teil 2,500 ± 0,005 ml einer $Hg(NO_3)_2$-Lösung mit

[1] Anal. chim. Acta (Amsterdam) **11**, 111—119 (1954). Escola de Engenharia, Porto Alegre (Brasilien).

12,5 μg Hg/ml pipettiert. Auf die Cyanidlösung gibt man 1 ml gesättigte Weinsäurelösung, ohne daß Vermischung stattfindet, verschließt das Gefäß und mischt durch vorsichtiges Bewegen. Die freiwerdende Blausäure diffundiert bei 27° C in 2 Std, bei 38° C in 1 Std in die Quecksilbernitratlösung. Zu 2,000 ± 0,005 ml der Hg^{II}-Lösung gibt man nun in einen ERLENMEYER-Kolben 42,5 ± 0,1 ml chlorfreies Wasser, 4,00 ± 0,01 ml einer 1,00 ± 0,02 n Salpetersäure und 1,500 ± 0,005 ml einer 0,02%igen alkoholischen Lösung von p-Dimethylaminobenzalrhodanin. Man läßt die Lösung 20 min im Dunkeln stehen und mißt dann die Lichtabsorption bei 480 mμ gegen Wasser. — Mit bekannten Mengen KCN wird eine Eichkurve aufgestellt. G. DENK.

Zur Bestimmung von Acrylnitril in gefärbten Lösungen verwenden G. J. JANZ und N. E. DUNCAN[1] das Verfahren von D. W. BEESING, W. P. TYLER, D. M. KURTZ und S. A. HARRISON[2], das auf der Cyanäthylierung von Dodecylmercaptan in Gegenwart eines basischen Katalysators beruht, und titrieren den Mercaptanüberschuß potentiometrisch mit Silbernitratlösung[3], wobei sie die Kalomelelektrode durch eine Silberelektrode ersetzen. Man erhält im Äquivalenzpunkt einen starken Potentialsprung. Zum Titrieren benutzt man eine 0,100 n Silbernitratlösung in gleichen Teilen Isopropyl- und Äthylalkohol. Die Resultate stimmen mit den Titrationsergebnissen nach dem jodometrischen Standardverfahren sehr gut überein. H. FREYTAG.

Aliphatische Carbonsäuren. *Kleine Mengen Fettsäuren* bestimmen B. W. GRUNBAUM, F. L. SCHAFFER und P. L. KIRK[4] durch potentiometrische Titration mit carbonatfreier Kalilauge unter Ausschluß der Luftkohlensäure. Die Titration erfolgt in der halbkugeligen Vertiefung einer knieförmig nach oben gebogenen Glaselektrode, welche aus der Mitte eines kleinen Becherglases aufragt. Der ringförmige Raum zwischen Glaselektrode und Becherwand ist bis zur Hälfte mit konzentrierter Natronlauge gefüllt, um die Luftkohlensäure zu absorbieren. Den Becher schließt ein Schliffdeckel ab, durch den eine kleine Kalomelelektrode und die Auslaufspitze einer Mikrobürette luftdicht (Colophonium-Bienenwachsmischung, 3:1) bis in die Höhlung der Glaselektrode geführt sind. Ein kleiner Magnetrührer durchwirbelt die zu titrierende Lösung, ein anderer zur schnelleren CO_2-Absorption die Natronlauge im Ring. Zur Ausführung der Bestimmung mißt man mittels einer Mikropipette 25 μl alkoholische Fettsäurelösung (mit 0,005—0,025 Mikroäquivalent Fettsäure) und 2mal 25 μl Spülalkohol in das Titriergefäß und titriert unter Benutzung eines p_H-Meßgerätes mit 0,001 n Kalilauge, die man aus Kaliumchloridlösung in einem stark basischen Ionenaustauscher carbonatfrei gewonnen hat. Die Titrationskurven (p_H-Werte gegen μl KOH-Verbrauch) korrigiert man um die Kurve des als Lösungsmittel benutzten reinen Alkohols. Zur Kontrolle der Kalilauge dienen Benzoesäure in Alkohol und saures Kaliumphthalat in Wasser. Die Prüfung der Methode mit reiner Stearinsäure und Palmitinsäure sowie mit einem Gemisch von Stearin-, Palmitin-, Myristin- und Laurinsäure ergab gut reproduzierbare Werte. F. NEUMANN.

Für die papierchromatographische Trennung von Fettsäuren geben H. P. KAUFMANN und W. H. NITSCH[5] folgende *Arbeitsvorschrift.* Auf 8—16 × 30—40 cm-Streifen von Sch. & Sch.-Papier Nr. 2043 b H werden die Startpunkte markiert

[1] Analyt. Chemistry **25**, 1410—1411 (1953). Rensselaer Polytechn. Inst., Troy, N. Y. (USA).

[2] Analyt. Chemistry **21**, 1073 (1949); vgl. diese Z. **131**, 296 (1950).

[3] TAMELE, M. W., and L. B. RYLAND: Ind. Engng. Chem., anal. Edit. **8**, 16 (1936); vgl. diese Z. **116**, 45 (1939).

[4] Analyt. Chemistry **25**, 480—482 (1953). Univ. Berkeley, Calif. (USA).

[5] Fette u. Seifen **56**, 154—158 (1954). Univ. und Inst. Fettforsch., Münster/Westf.

und die Streifen 30 sec lang in die Petroleumfraktion $K_{p760} \sim 190$ bis 220° C (hauptsächlich Undecan und Dodecan) gelegt oder langsam durchgezogen. Man preßt das Papier nach dem Abtropfen zwischen reinem Filtrierpapier und 2 Glasplatten mit 4 kg Beschwerung und läßt es dann auf neuem reinen Papier an der Luft liegen (je Seite 5 min). Das Aufbringen der in Toluol gelösten Substanz erfolgt wie üblich. Die Laufzeit beträgt 20 Std bei 30 cm langen Streifen. Das günstiger als 55%iger Isopropylalkohol wirkende „Lösungsmittel" wird vorbereitet, indem man 500 ml Essigsäure (70—90%ig) mit 25 ml der erwähnten Petroleumfraktion 15 min bei der Arbeitstemperatur schüttelt und die abgetrennte polare Phase mit 20 ml eines Eisessig-Wassergemisches gleicher Konzentration vermischt. Diese mobile Phase ist sofort benutzbar und bei konstanter Temperatur beliebig lange haltbar. Im Falle des wäßrigen Isopropanols wird in analoger Weise verfahren. Zum Anfärben der Chromatogramme wurde das Verfahren von H. P. Kaufmann und J. Budwig[1] modifiziert. Man erhitzt die Streifen im Trockenschrank 2 Std auf 120° C, legt sie für 45 min in eine Lösung, die aus 10 ml gesättigter Kupferacetatlösung und 240 ml Wasser bereitet wird und spült dann 15 min in fließendem Wasser. Hierauf legt man die Streifen in eine Lösung, die man aus 50 ml einer 7,5%igen Kaliumhexacyanoferrat(II)-lösung und 250 ml Wasser herstellt. Dunkelbraunes Cu-cyanoferrat kennzeichnet dann die vorhandenen Fettsäuren. Durch Behandlung mit Silbernitrat oder Bleiacetat und anschließend mit Schwefelwasserstoff lassen sich die Fettsäuren ebenfalls markieren. — Aus den Originalaufnahmen ist erkennbar, daß sich in dieser einfachen Weise höhere Fettsäuren glatt papierchromatographisch trennen lassen.

Die papierchromatographische Trennung von Fettsäuren und Fetten auf mit Paraffin getränktem Papier versuchten R. Wegmann, P. F. Ceccaldi und J. Biez[2]. Die Unlöslichkeit des Paraffins in Wasser, seine geringe Löslichkeit selbst in niederen Alkoholen und seine chemische Indifferenz machen es geeignet, die Rolle der fixen Phase zu übernehmen. — *Arbeitsweise.* Man taucht das Papier (Whatman Nr. 1 und 4, oder Durieux 202) in benzolische Lösungen verschiedener Konzentration von Paraffinöl, preßt dann zwischen zwei Filterpapieren und trocknet flachliegend. Die Fettsäuren werden als 5%ige äthanolische Lösungen 3 cm vom Rande auf die trocknen, imprägnierten Papiere aufgebracht. Entwickelt wird mit 60—90 Vol %igem Methylalkohol, 80—90 Vol%igem Äthanol oder Butyl- und Propylalkohol, die alle mit Paraffinöl gesättigt sind. Das mobile Lösungsmittel gibt man 1 Std vorher in den Chromatographierbehälter. Die Papierstreifen taucht man 1 cm tief in das Lösungsmittel und läßt 30 cm hoch bei konstanter Temperatur im Dunkeln steigen, was 16—18 Std dauert. Zum Sichtbarmachen besprüht man am besten mit 1%iger ammoniakalischer Silbernitratlösung, deren Überschuß man durch Auswaschen mit destilliertem Wasser entfernt. Mit verdünnter Ammoniumsulfidlösung überführt man dann die Silberseife in schwarzbraunes Silbersulfid. *Stearin-* und *Myristinsäure* sind chromatographisch schwierig zu identifizieren. Leicht trennbar sind jedoch Fettsäuren von stark unterschiedlicher Kettenlänge, wie z. B. *Caprin-* und *Stearinsäure*. Dagegen sind Caprin- und Undecylsäure sowie Öl- und Palmitinsäure nach dieser Methode nicht zu trennen. H. Freytag.

Um freie Fettsäuren vollständig zu oxydieren, empfehlen A. C. Kibrick und S. J. Skupp[3] die Oxydation mit 2 ml n Kaliumdichromatlösung und 4 ml konz. Schwefelsäure im Druckkessel bei 121° C. In 20 min werden so 0,2—1,5 mg Ölsäure oxydiert.

[1] Fette u. Seifen **53**, 390 (1951).

[2] Fette u. Seifen **56**, 159—160b (1954). Fac. de Médecine, Paris.

[3] Arch. Biochem. Biophysics **44**, 134—139 (1953). Univ. College Med., New York.

Danach wird rasch abgekühlt, bis normaler Druck entsteht, und noch heiß mit Wasser auf 10 ml verdünnt. Dann kann man die Absorption unmittelbar bei 600 mμ messen, die in bezug auf die Fettsäure eine lineare Kurve gibt. Die Übereinstimmung mit der Perchloratmethode ist sehr gut. Nach den Angaben der Verff. lassen sich in gleicher Weise *Glykogen* und *Fibrinogen* bestimmen, während andere Eiweißstoffe wegen ihrer wechselnden Zusammensetzung, besonders wegen des wechselnden Lipoidgehaltes keine befriedigenden Resultate ergeben. — Die Bestimmung kann auch *maßanalytisch* durchgeführt werden. Man verdampft dazu den Petroläther-extrakt zur Trockne, versetzt wie oben mit 2 ml n $K_2Cr_2O_7$-Lösung + 4 ml konz. Schwefelsäure, erhitzt bei 121° C, bringt dann mit kaltem Wasser auf etwa 50 ml, gibt 10 ml 10%ige KJ-Lösung zu und titriert mit Thiosulfatlösung.

K. Hinsberg.

Zur Identifizierung höherer Fettsäuren arbeiteten A. J. G. Barnett, H. Lees und D. K. Smith[1] eine elektrophoretische Methode aus, die auch für quantitative Arbeiten geeignet sein dürfte. Zur *Ausführung* wird ein 86 cm langer Kerzendochtfaden an jedem Ende mit Watte umwickelt und 8 Std mit kochendem destilliertem Wasser, das von Zeit zu Zeit gewechselt wird, extrahiert. Nach dem Trocknen extrahiert man 4 Std mit Äther und legt den Docht in Petroläther (Kp 40—60° C), der in 100 ml 0,25 g Paraffin (F etwa 60° C) enthält. Der Faden weist nach dem Verdampfen ungefähr 0,019 g Paraffingehalt auf. Man führt ihn durch eine Glasröhre (4 mm × 54 cm), die 10 cm vom Ende rechtwinklig gebogen ist. Der Faden tritt etwa 5 cm vom längeren Arm hervor. Die Röhre ist vertikal befestigt, der kürzere Teil ist horizontal. Der aus diesem ragende Faden taucht in 3 n Ammoniak. Jedes Ende des Dochts wird mit Pt-Draht umwickelt. Die positive Elektrode befindet sich oben, die negative 2 cm von der Austrittsstelle des Fadens aus der Röhre. Das Ammoniak wird über Nacht aufgesogen. Man unterbricht das Aufsaugen, indem man den Docht 1 cm am oberen Ende zurückzieht und ihn mit 0,05—0,10 ml Lösung der Fettsäuren in 3 n Ammoniak durchfeuchtet. Die Elektrophorese erfolgt mit Gleichstrom von 2 mA bei 300 V. Die Eluate sammelt man in 10 × 100 mm-Reagensgläsern, welche stündlich im Laufe von 36 Std gewechselt werden. Ihren Inhalt bringt man bei 80° C zur Trockne, versetzt nach dem Auskühlen mit je 1 ml Bromkresolpurpur-Indicator (p_H 7,3) und beobachtet die Farbänderung. Aus einem Gemisch erscheinen nach ungefähr 9 Std die *Stearin-*, nach 13 die *Palmitin-*, nach 22 die *Myristin-* und nach 31 Std die *Laurinsäure* in den Eluaten.

H. Freytag.

Ungesättigte Fettsäuren (*Öl-, Linol- und Linolensäure*) lassen sich, wie R. O. Simmons und F. W. Quackenbush[2] berichten, nach Überführung in ihre Additionsprodukte mit 2,4-Dinitrobenzolsulfenylchlorid chromatographisch an Magnesiumsulfatsäulen trennen und mit 95% Ausbeute im Eluat bestimmen. Gesättigte Fettsäuren reagieren nicht mit dem genannten Reagens. Die Einzelheiten des ausführlich beschriebenen Verfahrens mögen im Original nachgelesen werden. H. Sperlich.

Mehrfach ungesättigte Fettsäuren lassen sich in Anlehnung an die Makromethode[3] auch mikrospektrophotometrisch bestimmen, wie S. F. Herb und R. W. Riemenschneider[4] zeigen. Die Einrichtung zur Isomerisierung ist mit der

[1] Biochemic. J. **53**, Proc., XXXIII—XXXIV (1953). Univ. Aberdeen (Schottland).

[2] J. Amer. Oil Chemists' Soc. **30**, 614—616 (1953). Purdue Univ., Lafayette, Ind.

[3] Brice, B. A., M. L. Swain, S. F. Herb, P. L. Nichols jr. and R. W. Riemenschneider: J. Amer. Oil Chemists' Soc. **29**, 279 (1952); Herb, S. F., and R. W. Riemenschneider: J. Amer. Oil Chemists' Soc. **29**, 456 (1952); vgl. diese Z. **142**, 157 (1954).

[4] Analyt. Chemistry **25**, 953—955 (1953). East. Reg. Res. Lab. Philadelphia, Pa.

der schon beschriebenen Standardmethode identisch[1], jedoch wird das Reaktionsrohr (2,5 cm Durchmesser) abgeändert, indem es über dem Boden abgeschnitten und ein Reagensrohr von etwa 14 cm Länge und etwa 16 mm Durchmesser angeschmolzen wird. Die Wägenäpfchen bestehen aus hitzebeständigem Glas und haben 8 mm Durchmesser und 6 mm Höhe. Das Isomeriesierungsreagens[1] wird hergestellt, indem man Äthylenglykol auf 190° C 10 min erhitzt, auf 150° C abkühlt und die berechnete Menge Kaliumhydroxyd zufügt, um eine 21%ige Lösung zu erhalten. Diese erhitzt man nochmals 10 min auf 190° C und kühlt auf Raumtemperatur ab. Stets überschichtet man mit Stickstoff. Den Titer der Lösung kontrolliert man maßanalytisch mit Säure und stellt ihn genau mit bei 190° C entwässertem Äthylenglykol ein. Die Aufbewahrung erfolgt unter Stickstoff im Kühlschrank. — *Ausführung.* Man bringt 5,0 g des Isomerisierungsreagenses in das Reaktionsrohr, verdrängt die Luft mit sauerstofffreiem Stickstoff und erhitzt 15 min lang auf 180° C. Eine genaue Einwaage von 1—10 mg Fett läßt man langsam in das Reaktionsrohr hineingleiten, nimmt dieses heraus, schüttelt es heftig 5 sec lang und gibt es in das Heizbad zurück. In 30 sec-Intervallen schüttelt man, bis der Inhalt des Rohres klar und homogen geworden ist. Eine Blindprobe behandelt man ebenso. Die Ausführung wird mit einer Stoppuhr überwacht. Nach einer Gesamterhitzung von genau 15 min kühlt man das Reaktionsrohr rasch im kalten Wasser und verdünnt das Isomerisationsgemisch mit absolutem Methanol auf ein bestimmtes Volumen, um eine passende Durchlässigkeit zu erreichen. Zur Messung dient ein Beckman-Spektrophotometer (Modell DU). Eine Mikrowaage ist nicht erforderlich. Man kann 10—30 mg mit 1% Genauigkeit abwägen und in einer abgewogenen Menge reinem Laurylalkohol lösen. Auf diese Weise ist es möglich, 1—3 mg Fett zur Bestimmung zu verwenden. H. Freytag.

Zur papierchromatographischen Bestimmung organischer Säuren geben J. E. Löffler und F. R. Reichl[2] ein neues Verfahren an. Essigesterhaltige Lösungen besitzen eine große Steiggeschwindigkeit auf Filterpapier. Ätherhaltige Lösungen steigen noch rascher, haben aber den Nachteil eines hohen Dampfdruckes. Bewährt hat sich die Verwendung von Essigester-Eisessig-Wasser (3:1:1) [oder auch Butanol-Eisessig-Wasser (4:1:5)]. Dabei ist z. B. für *Citronensäure* die Größe des Fleckens bis zu einer Gesamtmenge von ungefähr 30 μg proportional dem Logarithmus der Konzentration. Flüchtige Fettsäuren sind bei Verwendung saurer Lösungsmittel nicht mehr aufzufinden, wohl aber, wenn sie als Salz in basischen Lösungsmitteln chromatographiert werden. Die Empfindlichkeit ist sehr hoch, von Citronensäure können noch 1,2 μg nachgewiesen werden. Für *Milchsäure* ist die kleinste Menge 12 μg. Über die R_f-Werte der einzelnen Säuren und auch der *Aminosäuren* ist im Original nachzulesen. Wenn die Papierstreifen 5 min bei 105—110° C getrocknet sind, werden sie zuerst mit 0,1 n Silbernitratlösung besprüht, wieder bei 105—110° C getrocknet und dann das vollkommen trockene Papier mit einer 2. Lösung (der phenolreichen, unteren Phase eines Gemisches aus gleichen Teilen wassergesättigtem Phenol und 0,05 n Natronlauge,) erneut besprüht und erwärmt. Nach wenigen Sekunden bräunt sich das ganze Papier mit Ausnahme der Säureflecken, die rein weiß auf tieforangeockerfarbigem Grund erscheinen. Geringere Säureflecken können bei zu langem Erwärmen dunkel und damit unerkennbar werden, sie sind aber meistens bereits nach dem Besprühen mit Silbernitrat erkennbar. K. Hinsberg.

---

[1] Amer. Oil Chemists' Soc., Offical and Tentative Methods, S. 1946 2nd Ed., revised 1952.

[2] Mikrochim. Acta (Wien) **1953**, 79—88. Hochsch. f. Bodenkultur, Wien.

Substituierte Fettsäuren lassen sich nach J. RADELL und E. T. DONAHUE[1] vorzüglich potentiometrisch bestimmen, wenn im Gemisch Benzol-Methanol (3:1) mit Natriummethylat titriert wird. Die Probe muß möglichst so bemessen sein, daß etwa 7 ml 0,1 n Methylatlösung verbraucht werden. — *Arbeitsweise.* Man versetzt die Probe mit 50 ml Lösungsmittelgemisch, fügt etwa 0,2 g Lithiumchlorid hinzu und läßt zwecks Auflösung 10—15 min im verschlossenen Gefäß stehen. Dann werden die zuvor 30 min in Benzol-Methanolgemisch getauchten Elektroden (Antimon- und Kalomelelektrode) eingesetzt und unter Rühren wird mit kleinen Zugaben potentiometriert. *Stearinsäure, α-Brompalmitinsäure, α-Sulfopalmitinsäure, 9,10-Dioxystearinsäure, 9,10-Epoxystearinsäure, 12-Ketostearinsäure* und gemischte *Aminostearinsäuren* lassen sich quantitativ mit einem Fehler von nur rund 1% bestimmen. Selbst intensiv gefärbte und mit leicht abspaltbaren Gruppen substituierte Fettsäuren werden einwandfrei ohne Nebenreaktion neutralisiert. Der Potentialsprung im Äquivalenzpunkt beträgt über 100 mV.

Die polarographische Bestimmung von α-Ketoglutarsäure läßt sich nach Versuchen von J. K. PALMER und C. O. JENSEN[2] in $2 \cdot 10^{-4}$ bis $2 \cdot 10^{-3}$ m Lösung auf 3—4% genau durchführen, wenn in üblicher Weise entweder bei p_H 1,8 (0,7 m KCl-HCl-Lösung) oder bei p_H 8,2 (0,1 m Ammoniak-Ammoniumchloridlösung) polarographiert wird. Eine Probe wird einfach in 35 ml Pufferlösung aufgenommen, auf 50 ml aufgefüllt, 10 min mit Stickstoff durchlüftet und dann bei p_H 1,8 von 0,35 bis —0,85 V, bei p_H 8,2 von —1,05 bis —1,6 V (gegen die gesätt. Kalomelelektrode) polarographiert (m = 1,062 mg sec^{-1}. In der Pufferlösung ist t = 5,6 sec, $m^{2/3} t^{1/6} = 1{,}39\ mg^{2/3} sec^{-1/2}$ für p_H 1,8 und bei —0,85 V; bzw. t = 4,4 sec, $m^{2/3} t^{1/6} = 1{,}33\ mg^{2/3} sec^{-1/2}$ für p_H 8,2 bei —1,6 V und 47 cm Hg-Säule). Die Diffusionsströme der Stufen bei $E_{1/2}$ —0,63 bzw. —1,34 V werden mit Eichkurven verglichen. Die Ionenstärke der Lösungen soll nicht unter 1,0 liegen. Da die meisten *in Pflanzengeweben* als Begleitsubstanzen vorkommenden Verbindungen unter diesen Bedingungen nicht reduzierbar sind, stört höchstens Maleinsäure. Brenztraubensäure und cis-Aconitsäure stören nur bei p_H 8,2, Fumarsäure nur bei p_H 1,8. Proteine verwischen die Stufe bei —1,34 V. Bei p_H 1,8 kann dann analysiert werden, trotzdem das Halbstufenpotential durch Proteine auf 0,69 V verschoben wird. Die Nachweisgrenze liegt bei 30 μg/ml. K. CRUSE.

Zur Bestimmung langkettiger Keto-Fettsäuren, insbesondere Licansäure (4-Oxoeläostearinsäure) neben Eläostearinsäure, haben A. MENDELOWITZ und J. P. RILEY[3] ein UV-spektrophotometrisches Verfahren ausgearbeitet, das auf einer von G. R. LAPPIN und L. C. CLARK[4] angegebenen Arbeitsweise beruht. — *Ausführung.* 0,1 g Substanz werden in ketonfreiem Äthanol zu 100 ml gelöst. Man verdünnt mit demselben Lösungsmittel bis zu einer Konzentration von etwa 0,001% in bezug auf die Ketogruppe. 1 ml dieser Lösung wird in einem 10 ml-Meßgefäß mit 1 ml Dinitrophenylhydrazinreagens versetzt (0,06 g 2,4-Dinitrophenylhydrazin werden in 1 ml konstant siedender Salzsäure und 80 ml ketonfreiem Äthanol warm gelöst und nach dem Abkühlen mit ketonfreiem Äthanol auf 100 ml aufgefüllt) und lose verschlossen auf 60° C erhitzt. Nach 1 min verschließt man fest und hält 50 min auf dieser Temperatur. Dann kühlt man 2 min in Wasser, setzt schnell 5 ml alkoholische KOH-Lösung hinzu (10 g KOH in 20 ml Wasser gelöst und mit Äthanol auf 100 ml verdünnt) und füllt mit Wasser auf 10 ml auf. Dann

[1] Analyt. Chemistry **26**, 590—591 (1954). East. Region. Res. Lab., Philadelphia.
[2] Analyt. Chemistry **26**, 1049—1050 (1954). State Univ., State College, Pa. (USA).
[3] Analyst (London) **78**, 704—709 (1953). Univ. Liverpool (England).
[4] Analyt. Chemistry **23**, 541 (1951); vgl. diese Z. **134**, 224 (1951/52).

mißt man die Extinktion der Lösung bei 535 mμ (zweites Absorptionsmaximum von 12-Oxostearin- und Licansäure) gegen dest. Wasser. In gleicher Weise wird ein Blindwert und eine Bestimmung mit dem entsprechenden reinen Keton durchgeführt. Als Kontrollsubstanz für unstabile Ketone, z. B. Licansäure, verwendet man eine verwandte stabile Verbindung, z. B. Oxostearinsäure. — Das Verfahren eignet sich auch zur Bestimmung anderer Ketoverbindungen. H. Sperlich.

Über das papierchromatographische Verhalten einiger Alkoxysäuren stellte J. H. Nair III[1] Versuche an. Nach der Arbeitsweise von E. P. Kennedy und H. A. Barker[2] wurden Streifen von Whatman-Papier Nr. 1 (30 × 45 cm) mit Oxalsäurelösung gewaschen und dann durch Ultrarotbestrahlung getrocknet. Die Ammoniumsalze der Alkoxysäuren (10–40 g freie Säure ml) wurden in Tropfen von 0,01 ml 3 cm vom Papierrand entfernt aufgetragen und dann aufsteigend mit verschiedenen Lösungsmitteln 6—8 Std entwickelt. Nach dem Trocknen bei 105 bis 110° C besprühte man mit Bromphenolblaulösung (50 mg Bromphenolblau + 200 mg Citronensäure in 100 ml Wasser). Die Säureflecken erscheinen dann blau in einem gelben Untergrund. Die Farbintensität nimmt mit der Säurekonzentration zu, so daß durch Vergleich mit Flecken bekannten Säuregehaltes ungefähre Konzentrationsbestimmungen möglich sind. Für 7 verschiedene Lösungsmittelgemische wurden die R_f-Werte von 8 Alkoxysäuren bestimmt. Die Lösungsmittelgemische sind: A) 1-Butanol, mit 1,5 n NH_4OH-Lösung gesättigt, B) 1-Butanol-1-Propanol-1,5 n Ammoniak (75:25:10), C) 1-Hexanol, mit 1,5 n NH_4OH-Lösung gesättigt, D) 99 ml 95%iger Äthylalkohol + 1 ml Ammoniaklösung (D 0,9), E) 50 ml 1-Butanol + 50 ml absol. Äthanol + 1 ml Ammoniaklösung (D 0,9), F) Isooctan-Aceton-95%iger Äthylalkohol-Ammoniaklösung (D 0,9) 40:30:30:1). Folgende Säuren wurden untersucht (in Klammern sind die R_f-Werte für das Lösungsmittelgemisch B eingetragen: *Methoxyessigsäure* (8), *Äthoxyessigsäure* (17), *n-Propoxyessigsäure* (27), *n-Butoxyessigsäure* (39), *3-Äthoxypropionsäure* (26), *4-Methoxy-n-buttersäure* (24), *n-Hexansäure* (57), *2-Äthyl-n-hexansäure* (74). Die R_f-Werte nehmen mit steigendem Molekulargewicht der Säuren zu. A. Kurtenacker.

Ein Verfahren zur Bestimmung kleinster Oxalsäuremengen mit Ammoniumhexanitratocerat(IV) nach der Dead-stop-Methode, die der Permanganattitration deutlich überlegen ist, hat S. Samson[3] beschrieben. *Titerlösung*: Käufliches Ceroxalat wird in der Platinschale durch Glühen in das Oxyd übergeführt und dieses in konz. Salpetersäure gelöst. Nach Verdünnen mit der gleichen Menge Wasser wird die klare Lösung mit einem Überschuß Ammoniumnitrat versetzt und auf dem Wasserbad bis zur beginnenden Kristallisation eingedampft. 3,5 g des kristallisierten Ammoniumcerats werden in 1 l 1,4 n Salpetersäure gelöst, so daß eine etwa 0,004 n Lösung entsteht, die lange Zeit haltbar ist. — Die in der üblichen Dead-stop-Anordnung ausgeführte Titration zeigt die Äquivalenzpunkte am besten an, wenn 200 mV angelegt werden. Enthält die Oxalsäurelösung (0,01 n) Überchlorsäure, so sind die Ergebnisse mit Blindproben zu vergleichen, da der Äquivalenzpunkt dann je nach der Überchlorsäurekonzentration zu höheren Gehalten verschoben liegt. Bei Vergleich mit Blindproben können noch Titrationen in sehr verdünnten Lösungen (0,0005 n) zuverlässig ausgewertet werden. Bei Titration von 5 ml 0,01 n Oxalsäure liegt der Fehler unter 0,1 ml Verbrauch. K. Cruse.

---

[1] Analyt. Chemistry **25**, 1912 (1953). Mellon Inst., Pittsburgh, Pa. (USA).

[2] Analyt. Chemistry **23**, 1033 (1951); vgl. diese Z. **136**, 147 (1936).

[3] Chem. Weekbl. **1954**, 341—345 [Holländisch]. Landbouwproefstat., Bodenkund. Inst. T.N.O., Groningen (Holland).

Zur Ultramikrobestimmung von Milchsäure haben R. P. Hullin und R. L. Noble[1] ein neues Verfahren in Anlehnung an die Vorschrift von S. B. Barker und W. H. Summerson[2] entwickelt. Es muß vor allen Dingen ein Überschuß an Brenztraubensäure entfernt werden, da dieser die Farbentwicklung mit p-Oxydiphenyl stört. — *Arbeitsvorschrift.* 2 ml der eiweißfreien Lösung, die 10—80 μg Milchsäure enthalten soll, wird mit 1 ml 20%iger Kupfersulfatlösung und 1 g $Ca(OH)_2$ gemischt und nach 30 min zentrifugiert. Enthält das eiweißfreie Filtrat mehr als 100 bis 600 μg Brenztraubensäure, so werden 6 ml der überstehenden Flüssigkeit mit 0,6 ml Kupfersulfatlösung und 0,6 g $Ca(OH)_2$ und nochmal 3 ml überstehenden Flüssigkeit mit 0,3 ml bzw. 0,3 g der Reagentien behandelt. Schließlich versetzt man 1 ml der überstehenden Lösung mit 0,05 ml 12%iger Kupfersulfatlösung und setzt 6 ml konz. Schwefelsäure tropfenweise zu. Man erhitzt 30 min auf 60° C, kühlt auf 10—15° C ab und gibt 0,1 ml p-Oxydiphenylreagens zu, wobei der entstehende Niederschlag sorgfältig verteilt wird. Dann läßt man 20 min bei 28—30° C stehen, erhitzt 90 sec im kochenden Wasserbad, um den Überschuß an Oxydiphenyl zu zerstören und colorimetriert anschließend bei 560 mμ. Die angegebenen Temperaturen und Zeiten ergeben eine optimale Farbentwicklung; bei Zusatzversuchen mit Brenztraubensäure zeigt sich, daß der Fehler bei ± 2% liegt. *p-Oxydiphenylreagens.* Man löst 1,5 g p-Oxydiphenyl in 10 ml 5%iger Natronlauge und verdünnt mit Wasser auf 100 ml. K. Hinsberg.

Die Bestimmungsmethode von Citronensäure durch Überführung in Pentabromaceton, nach H. A. Krebs und H. V. Eggleston[3], modifiziert von C. A. Hargreaves, M. D. Abrahams und H. B. Vickery[5], kann erheblich abgekürzt werden, wenn das Pentabromaceton polarographisch bestimmt wird. Ph. J. Elving und R. E. van Atta[4] geben hierfür folgende *Vorschrift* an: 0,5—10 mg Citronensäure werden in 10 ml Wasser gelöst und mit 2 ml 18 n Schwefelsäure versetzt. Dann wird 5 min zum Sieden erhitzt. Nach dem Abkühlen werden 1 ml 20%ige Metaphosphorsäure, 2 ml 1 n Kaliumbromidlösung und 5 ml 1,5 n Kaliumpermanganatlösung zugefügt. Man läßt 10 min stehen und fügt dann bis zur Entfärbung 3%iges eiskaltes Wasserstoffperoxyd hinzu[5]. Zu dieser Lösung wird tropfenweise Kaliumpermanganatlösung bis zum Auftreten einer leichten Rotfärbung zugesetzt (Unterdrückung der Wasserstoffperoxydstufe im Polarogramm) und nach Zusatz eines Tropfens 0,1%iger Methylorangelösung 5 n Natronlauge bis zum Auftreten einer Braunfärbung. Dann wird einige Sekunden mit 13 ml 95%igem Alkohol geschüttelt und mit Wasser auf 50 ml aufgefüllt. Nach 10 min kann von der überstehenden klaren Lösung eine Probe von 10 ml mit Ammoniak-Ammoniumchloridpufferlösung (p_H 8,8) auf 50 ml aufgefüllt und nach Behandeln mit Wasserstoff (10 min) von —0,9 bis —1,6 V polarographiert werden (m 1,28 mg sec^{-1} im offenen Stromkreis bei 50 cm Hg-Säule; $m^{2/3}t^{1/6}$ bei —1,35 V gegen die gesätt. Kalomelelektrode ist 1,413 $mg^{2/3}$ $sec^{-1/2}$). Das Polarogramm zeigt drei Stufen (—0,12, —0,48 und —1,22 V), von denen die dritte gut auswertbar und durch Mangan am wenigsten gestört ist. Zur Auswertung wird mit Eichlösungen verglichen.

Eine Bestimmung ist in 1 Std ausführbar. Die Genauigkeit liegt bei 2—3%. — Auch d-Isocitronensäure ist nach enzymatischer Umwandlung in Citronensäure[5] so bestimmbar. K. Cruse.

[1] Biochemic. J. **55**, 289—291 (1953). Univ. Leeds (England).

[2] J. biol. Chemistry **138**, 535 (1941).

[3] Biochemic. J. (London) **38**, 426 (1944).

[4] Analyt. Chemistry **26**, 295—298 (1954). Pennsylvania State Univ., State College, Pa. (USA).

[5] Analyt. Chemistry **23**, 467 (1951); vgl. diese Z. **135**, 385 (1952).

Bei der Mikrobestimmung von Citronensäure ergeben sich nach T. G. Taylor[1] Unstimmigkeiten bei Verwendung verschiedener Reduktionsmittel. Unter Verwendung der Vorschrift von H. Weil-Malherbe und A. D. Bone[2] wird als Reduktionsmittel 22%ige Eisen(II)-sulfatlösung in n Schwefelsäure an Stelle von Thiosulfat vorgeschlagen. Das Oxydations- und Bromierungsgemisch zur Überführung der Citronensäure in Pentabromaceton besteht aus 19,836 g KBr, 5,440 g $KBrO_3$ und 12,0 g NH_4VO_3 im Liter. Zur *Ausführung* mischt man eine Probe von 5 ml mit 5 ml 27 n Schwefelsäure (wobei die Temperatur auf ungefähr 50° C ansteigt), setzt sofort 5 ml Oxydationsreagens zu, mischt und läßt 20—30 min stehen. Nach Zusatz von 2 ml Eisen(II)sulfatlösung läßt man 10 min unter gelegentlichem Schütteln stehen, damit auch das Brom der Gasphase absorbiert wird. Die Lösung ist jetzt grün gefärbt durch $V_2O_6^{4-}$-Ionen. Man schüttelt 1 min mit 6 ml Petroläther, saugt die untere wäßrige Schicht so vollständig wie möglich ab, bindet den Rest des Wassers mit wasserfreiem Natriumsulfat und entnimmt 5 ml des trockenen Petroläthers, der 1 min mit einer frischen 2%igen Na_2S-Lösung geschüttelt wird. Darauf wird die Absorption bei 450 mμ gemessen. Man muß darauf achten, daß das freie Brom vollständig gebunden wird. Die maximale Farbe im Petroläther entwickelt sich nach 12–15 min und bleicht dann aus. Zwischen 20 und 200 μg Citronensäure ist die Eichkurve linear, bei den kleinsten Werten ist die Fehlerbreite beträchtlich. In Zusatzversuchen schwanken die Ausbeuten zwischen 97 und 102%.

K. Hinsberg.

Die mikrocolorimetrische Bestimmung von Citronensäure und cis-Aconitsäure ist nach J. Nekhorocheff und J. Wajzer[3] mittels der von O. Fürth und H. Herrmann[4] gefundenen Farbreaktion von Tricarbonsäuren mit Essigsäureanhydrid und Pyridin möglich. Die Citronensäure liefert diese Reaktion in der Wärme, die cis-Aconitsäure schon in der Kälte. Ausgenutzt wird die starke Absorption der Reaktionsprodukte im nahen Ultraviolett. — *Arbeitsmethode.* Die zu prüfende Lösung in möglichst 0,5 ml nicht übersteigender Menge wird mit einem Überschuß an konz. Ammoniak versetzt. Dann fügt man 2 ml 95 Vol%igen Alkohol zu, dampft auf dem kochenden Wasserbad zur Trockne ein und wiederholt das Eindampfen dreimal in Gegenwart von insgesamt 5 ml Alkohol. Zur Bestimmung des *cis-Aconitats* kühlt man den Trockenrückstand auf 0° C, fügt 3,0 ml kalten 95 Vol%igen Alkohol und 0,5 ml eines Gemisches aus 3,5 Teilen Pyridin und 1,5 Teilen Essigsäureanhydrid zu, läßt die Färbung etwa 10 min sich entwickeln und mißt die Absorption bei 3700 Å im Beckman-Spektrophotometer unter Benutzung einer 1 cm-Küvette. Im Falle von *cis-Aconitat* und *Citrat* kühlt man den Rückstand im Reagensglas auf normale Temperatur ab, fügt 0,5 ml des Reagenses zu, verschließt das Glas, schüttelt, taucht es in ein siedendes Wasserbad, kühlt erneut auf Raumtemperatur ab, verdünnt mit 3,0 ml 95 Vol%igem Alkohol und photometriert binnen 20 min bei 3700 Å. Die Methode ist auch in Gegenwart von Natriumperchlorat anwendbar. Die Anwendung in enteiweißten Extrakten von Mikroorganismen wird noch untersucht.

H. Freytag.

Über die polarographische Analyse von Mischungen aus Fumar- und Maleinsäure und deren Diäthylestern berichten Ph. J. Elving, A. J. Martin und I. Rosenthal[5]. Da die Säuren und Ester im p_H-Bereich zwischen 2 und 10 nach Ph. J.

[1] Biochemic. J. **54**, 48—49 (1953). Univ. Reading (England).
[2] Biochemic. J. **45**, 377 (1949); vgl. diese Z. **132**, 319 (1951).
[3] Bull. Soc. Chim. biol. (Paris) **35**, 695—696 (1953). Inst. Biol. phys.-chem., Paris.
[4] Biochem. Z. **280**, 448 (1935); vgl. diese Z. **117**, 144 (1939).
[5] Analyt. Chemistry **25**, 1082—1084 (1953). State Coll., State College, Pa. (USA).

Elving und C. Teitelbaum[1] nur unzureichend unterscheidbare Reduktionsstufen liefern, erfolgt die Analyse in zwei Aufnahmen: In Ammoniakpufferlösung der Ionenstärke 1 (p_H 8,2) wird zunächst das Polarogramm zur Bestimmung der Säuren aufgenommen, wozu eine mit Pufferlösung auf das zehnfache verdünnte 0,01—0,02 m Lösung der Säuren in Alkohol verwendet wird, und wobei, falls innerhalb 30 min polarographiert wird, ein durch Verseifung von Estern hervorgerufener Fehler unter 0,7% liegt. (Capillardaten: 1,65 $mg^{2/3} sec^{-1/2}$ bei 75 cm Hg-Säule, offenem Stromkreis in destilliertes Wasser und 25° C, stets mit Stickstoff durchlüftet.) Eine zweite gleiche Probe wird mit 2,0 ml 0,2 n Kalilauge je 5 ml 20 min auf dem siedenden Wasserbad vollständig verseift und dann ebenso behandelt. Aus der Zunahme der Säuremenge wird dann der Estergehalt ermittelt. Da die grundsätzlich lineare Abhängigkeit des Diffusionsstroms von der Konzentration sich mit dem Kaliumhydroxydgehalt ändert, muß mit entsprechenden Eichaufnahmen analysiert werden. Die Grenze der Analyse liegt bei 0,0026 molarem Maximalgehalt an Säuren[2]; $5 \cdot 10^{-5}$ m Lösungen sind der Bestimmung noch gerade zugänglich. Malein- und Fumarsäure werden auf 2—3% genau erfaßt, der Fehler der Esterbestimmung liegt etwas höher (Differenzverfahren!). Reine Esterlösungen werden vorteilhafter nach Elving und Teitelbaum[1] in saurer Pufferlösung ($p_H < 5$) analysiert. Zwischen —1,0 und —1,9 V gegen die Standardkalomelelektrode reduzierbare Verbindungen stören die Analysen. K. Cruse.

Glycidsäureester bestimmen M. E. Dullaghan und F. F. Nord[3] spezifisch durch Ausnutzung der Reaktion der Epoxygruppe mit wasserfreiem Jodwasserstoff, wobei freies Jod entsteht, das titriert wird. Der Jodwasserstoff wird durch Erhitzen von Jod mit Tetralin erzeugt. — Zur *Bestimmung* wägt man 10—15 mg Glycidsäureester in verschlossener Ampulle oder kleinem Wägekölbchen ein, bedeckt in einem 125 ml-Erlenmeyer-Kolben mit 25—30 ml wasserfreiem Äther und läßt unter Rühren Jodwasserstoff etwa 5 min durch die Lösung strömen, bis ein Maximum an Rotfärbung erreicht ist. Man setzt nun 8—9 ml 0,1 n Natriumthiosulfatlösung und einige Kriställchen Kaliumjodid hinzu und setzt das Rühren solange fort, bis die Ätherschicht farblos wird. Dann verjagt man den Äther, kühlt den Kolben ab, versetzt mit Stärkelösung und titriert den Thiosulfatüberschuß mit Jodlösung zurück. — *Kurzmethode.* Die Einwaage versetzt man im 125 ml-Kolben mit 25 ml entwässertem Äther und 0,5 g wasserfreiem Natriumsulfat, fügt 0,15 ml farblose Jodwasserstoffsäure (D 1,54; 57%ig) zu und rührt magnetisch bis zum Auftreten stärkster Rotfärbung. Dann versetzt man mit Thiosulfatlösung und verfährt wie schon beschrieben. Bei dieser Arbeitsweise sind die Resultate um einen konstanten Bruchteil zu niedrig. Die richtigen Werte ergeben sich durch Multiplikation mit dem Faktor 1,37. H. Freytag.

Zur Analyse von organischen Säurechloriden, die mit *freier organischer Säure*, *Anhydrid* und *Salzsäure* verunreinigt sind, entwickelten C. C. T. Chinnick und P. A. Lincoln[4] eine neue Methode. — *Ausführung.* Zu 25 ml einer 33%igen Lösung von trockenem Pyridin in trockenem Butanol setzt man das Säurechlorid (etwa 0,025 Mole) zu. Dann erhitzt man zur Vervollständigung der Veresterung unter Rückfluß auf dem Dampfbad (die dazu erforderliche Zeit hängt von der Reaktionsfähigkeit des Säurechlorids ab), kühlt ab, verdünnt mit Äthanol und titriert mit n Kalilauge unter Verwendung eines p_H-Meters. Bei Anwesenheit von freier Säure und

[1] J. Amer. chem. Soc. **71**, 3916 (1949).

[2] Warshowsky, B., Ph. J. Elving and J. Mandel: Analyt. Chemistry **19**, 161 (1947).

[3] Mikrochim. Acta (Wien) **1953**, 17—21. Fordham Univ., New York 58.

[4] Analyst (London) **78**, 675—678 (1953). Milton Antiseptic, Ltd., London.

Säureanhydrid erkennt man auf der Titrationskurve zwei Wendepunkte und zwar bei p_H 6 (Neutralisation der Salzsäure) und p_H 10 (Neutralisation der organischen Säure). Nach Erreichen des zweiten Wendepunktes fügt man einen bestimmten Überschuß (etwa 50 ml) n Kalilauge zu und kocht 2–3 Std unter Rückfluß. Bei einem schwer zu verseifenden Ester ist es vorteilhaft, durch Destillation etwas Äthanol zu entfernen und dadurch die Alkalikonzentration zu erhöhen. Nach der Verseifung titriert man den Alkaliüberschuß mit n Salzsäure zurück. – Für den Fall, daß kein p_H-Meter zur Verfügung steht, ist es möglich, die Wendepunkte bei p_H 6 und p_H 10 mit Hilfe eines Mischindicators (Methylrot/Thymolphthalein) festzustellen oder zur Unterscheidung der Salzsäure von der organischen Säure die Titration mit Silbernitratlösung zu verwenden, wofür eine Modifikation des Verfahrens gegeben wird. Wegen größerer Genauigkeit wird jedoch die elektrometrische Methode vorgezogen. — Zur Berechnung der Prozentgehalte verwendet man folgende Gleichungen: Prozent Säurechlorid $= T_3 \times M_1/10\ W$ oder $= T_1 \times M_1/10\ W$; Prozent freie organische Säure $= T_2 \times M_2/10\ W$ oder $= (T_1 + T_2 - T_3) \times M_2/10\ W$; Prozent Säureanhydrid $= (T_3 - T_1)\ M_3/10\ W$; Prozent Salzsäure $= (T_1 - T_3) \times 36{,}46\ 10\ W$. Hierbei bedeuten: T_1 die der Salzsäure äquivalenten, T_2 die der organischen Säure entsprechenden und T_3 die zur Verseifung verbrauchten Milliliter n Alkali; M_1 ist das Molekulargewicht des Säurechlorides, M_2 das der organischen Säure und M_3 das des Säureanhydrids; W ist das Gewicht der Probe. H. Freytag.

Eine Reaktion auf acyclische Carbonsäureanhydride wird von D. Davidson[1] mitgeteilt. – Bei der häufig benutzten Reaktion von Aminosäuren mit p-Nitrobenzoylchlorid in Gegenwart einer Base erfolgt die Bildung eines Lactons, das eine schwache Säure mit Indicatoreigenschaften darstellt und dessen Anion in Pyridin eine blaue Färbung verursacht, die allmählich verschwindet. Die Regenerierung der Färbung kann durch Zusatz von p-Nitrobenzoylchlorid oder Essigsäureanhydrid bewirkt werden. Das Verschwinden und Wiederauftreten der Färbung hängt mit dem Öffnen und Schließen des Lactonringes zusammen. Durch Einfügen einer acidifizierenden Gruppe an das α-C-Atom der Aminosäuren, z. B. Phenyl, wird ein Reagens auf Säureanhydride erhalten. — *Ausführung.* Zu 1 ml einer 3%igen Lösung von α-(p-Nitrobenzoyl)-amino-α-toluylsäure in Pyridin wird 1 Tropfen der zu untersuchenden Substanz zugesetzt. Durch acyclische Säureanhydride entsteht in wenigen Sekunden eine blaue Färbung, die allmählich verschwindet. Säuren von der Stärke der Salicylsäure verhindern die Reaktion. Hier ist ein Zusatz von Triäthylamin vorteilhaft. Unter diesen Bedingungen und Zusatz eines Tröpfchens Wasser reagieren auch Säurechloride. Negativ reagieren Maleinsäure-, Bernsteinsäure-, Glutarsäure-, Phthalsäure- und 3-Nitrophthalsäureanhydrid. Positive Reaktion geben u. a. die *Anhydride von Essig-, Propion-, Butter-, Caprin-, Laurin-, Myristin-, Palmitin-, Stearin-, Benzoe-, Anis-, Phenylessig-, Zimt-, Polyadipinsäure usw.* Th. Breyhan.

Die Bestimmung von Peressigsäure neben Wasserstoffperoxyd kann nach L. Szebellédy[2] durchgeführt werden, indem man das Wasserstoffperoxyd mit Chlorwasser vernichtet, dessen Überschuß mit KCN-Lösung entfernt und die Peressigsäure dann jodometrisch feststellt. In einer zweiten Probe wird die Summe H_2O_2 + Peressigsäure durch unmittelbare jodometrische Titration ermittelt und aus dem Ergebnis der H_2O_2-Gehalt berechnet. Das Verfahren ist einfacher als die von J. D'Ans und W. Frey[3] angegebene Arbeitsweise. Die neue Methode

[1] Analyt. Chemistry **26**, 576 (1954). Brooklyn Coll., Brooklyn (USA).

[2] Magyar. Kémiai Folyóirat **59**, 155–158 (1953) [Ungarisch]. Forsch.-Inst. Holzgewerbe, Budapest.

[3] Ber. dtsch. chem. Ges. **45**, 1845 (1912).

eignet sich auch zur *Bestimmung von* Caroscher *Säure neben Wasserstoffperoxyd.* — *Ausführung.* Man versetzt 20 ml annähernd 0,025%iger Peressigsäurelösung in einem 150 ml-Jodzahlkolben mit 10 ml 10%iger Schwefelsäure, 5—6 ml Chlorwasser, dann 2 bis 2,5 ml 5%iger KCN-Lösung, schüttelt und wartet etwa 10 min bis zum Verschwinden der gelben Farbe. Nach Zugabe von 0,5—1 g KJ titriert man mit 0,1 n $Na_2S_2O_3$-Lösung. Die Ergebnisse sind ausgezeichnet. J. Plank.

Zur spektrophotometrischen Bestimmung von Harnstoff verwenden G. W. Watt und J. D. Chrisp[1] die gelbgrüne Farbe, die mit p-Dimethylaminobenzaldehyd auftritt. — *Ausführung.* 10 ml des Farbreagenses, welches man durch Auflösen von 2,000 g p-Dimethylaminobenzaldehyd in 100 ml 95%igem Äthanol und 10 ml konz. Salzsäure erhält, gibt man zur Lösung des Harnstoffs und verdünnt auf 25,0 ml. Die gelbgrüne Färbung, die nach 10 min voll entwickelt und 11 Tage beständig ist, wird bei 420 mμ gemessen. Erst bei einem 10fachen molaren Überschuß an Hydroxylamin und einem 15fachen an Ammoniumchlorid tritt ein Fehler von 1% auf. — Sollen *Harnstoff, Semicarbazid* und *Hydrazin* nebeneinander bestimmt werden, dann wird zunächst in einem Teil nach G. W. Watt und J. D. Chrisp[2] das Hydrazin spektrophotometrisch mit p-Dimethylaminobenzaldehyd bei 458 mμ ermittelt, in einem andern aliquoten Teil Hydrazin und Semicarbazid durch Titration mit Jodat nach G. S. Jamieson[3]. Aus der Differenz errechnet sich der Gehalt an Semicarbazid. Die etwa 4 n salzsaure Lösung dieser Titration wird, nachdem das Jodmonochlorid mit Thiosulfatlösung entfernt ist, mit Natronlauge gegen Phenolphthalein neutralisiert und wieder mit 2—3 Tropfen 1 n Salzsäure angesäuert. Die wäßrige Schicht wird abgetrennt, die Chloroformschicht (bei der Jodattitration zugesetzt) mit 10 ml Wasser gewaschen und von den vereinigten wäßrigen Phasen in einem aliquoten Teil der Harnstoff spektrophotometrisch bei 420 mμ bestimmt. G. Denk.

Die spektrophotometrische Bestimmung von Nitroaminoguanidin (und Nitroguanidin) nach J. E. de Vries und E. St. Clair Gantz[4] beruht auf der Absorptionsmessung der gelbgefärbten Lösung des p-Nitrobenzaldehydhydrazons bei 385 mμ (da in diesem Gebiet die Absorption von p-Nitrobenzaldehyd, das sich stets im Überschuß vorfindet, fast Null ist). Die Gelbfärbung ist in alkalischem Medium 6 Tage beständig. — *Ausführung.* 1 ml der *Nitroaminoguanidin* enthaltenden Lösung (nicht mehr als $5 \cdot 10^{-3}$ m) versetzt man in einem 100 ml-Meßkolben mit etwa 50 ml Wasser, 5 Tr. konz. Salzsäure und 1 ml 2%iger p-Nitrobenzaldehydlösung in Methanol, erwärmt 3—5 min auf 70—80° C, fügt nach dem Abkühlen 1 ml 10 n Kalilauge zu und verdünnt zur Marke mit Wasser. Die Gelbfärbung ist nach 15 min voll entwickelt und kann dann bei 385 mμ gemessen werden. Eine Blindprobe ist erforderlich. — Zur Ermittlung der *gesamten Nitroguanidine* wird 1 ml der zu prüfenden Lösung (nicht über $5 \cdot 10^{-3}$ m) im 500 ml-Meßkolben bis zur Marke mit Wasser verdünnt und die Absorption dieser Lösung bei 265 mμ gegen Wasser als Blindprobe gemessen, wobei man die Summe der Absorptionen beider Verbindungen erhält. Aus der Konzentration, die man durch die oben beschriebene Messung der Absorption von Nitroaminoguanidin bei 385 mμ gewinnt, berechnet man dessen Absorption bei 265 mμ (A_{265} Nitroaminoguanidin = E × c/M × 13,27 × Mol/Liter) und zieht diesen Wert von der Gesamtabsorption bei 265 mμ ab: A Gesamt — A Nitroaminoguanidin = A Nitroguanidin. Aus diesem Wert erhält man sodann die

[1] Analyt. Chemistry **26**, 452—453 (1954). Univ. Austin, Tex. (USA).

[2] Analyt. Chemistry **24**, 2006 (1952); vgl. diese Z. **143**, 303 (1954).

[3] Amer. J. Sci. **33**, 352 (1912); vgl. diese Z. **52**, 782 (1913).

[4] Analyt. Chemistry **25**, 1020—1022 (1953). U. S. Naval. Ordn. Test. Stat., China Lake, Calif. (USA).

Konzentration an Nitroguanidin durch $c = AM/E$. Die Genauigkeit ist sehr zufriedenstellend (Standardabweichung vom Mittel: 0,0022 für Nitroguanidin; 0,00022 für Nitroaminoguanidin). H. Freytag.

Zur Bestimmung von Kohlendioxyd in wäßrigen Äthanolaminlösungen geben P. T. Wagner und M. Lew[1] ein einfaches volumetrisches Verfahren an. Es beruht auf der Reaktion des Äthanolamincarbonats bzw. hydrogencarbonats mit überschüssiger Natronlauge:

$$(HOCH_2CH_2NH_3)_2CO_3 + 2\,NaOH \rightarrow Na_2CO_3 + 2\,HOCH_2CH_2NH_3OH$$

$$HOCH_2CH_2NH_3HCO_3 + 2\,NaOH \rightarrow Na_2CO_3 + HOCH_2CH_2NH_3OH + H_2O.$$

Die nicht verbrauchte Lauge wird in Gegenwart von 75% Äthanol zurücktitriert, da Äthanolamin in diesem Lösungsmittel neutral reagiert. – *Arbeitsweise.* 35 ml 0,5 n Natronlauge werden mit 5 g Natriumacetat (zur Unterdrückung der Hydrolyse von Na_2CO_3 und der Ionisation des Amins) und 5 ml der Probe versetzt. Man erhitzt zum Sieden, kühlt ab und setzt 120 ml 95%iges Äthanol und 1 ml 0,2%ige äthanolische Lösung von Alizaringelb hinzu. Dann titriert man mit 0,5 n alkoholischer Essigsäure auf den gleichen Farbton, den man beim Einstellen dieser Maßlösung erhält. Dies erfolgt auf dieselbe Weise unter Fortlassen der Probelösung. Von carbonatreichen Proben verwendet man weniger als 5 ml. Die Fehlerbreite der Methode beträgt $\pm 0{,}04$ g CO_2 in 100 ml Lösung. H. Sperlich.

Glycerin. J. W. B. Erskine, C. R. N. Strouts, G. Walley und W. Lazarus[2] beschreiben eine einfache volumetrische Bestimmungsmethode, die auf der *Oxydation des Glycerins mit Metaperjodat* zu Formaldehyd und Ameisensäure und anschließender alkalimetrischer Titration der Säure beruht. Verschiedene Polyalkohole und Zucker stören, kommen jedoch in den glycerinhaltigen Produkten der Seifenherstellung und Fettspaltung nicht vor. Die in diesen Produkten meist auftretenden Polyglycerine und Trimethylenglykol stören nicht. — *Arbeitsweise.* In einen trocknen Kolben wägt man so viel der Probe ein, daß 0,7—0,8 g Glycerin vorhanden sind. (Bei Seifen nimmt man nach Entfernung der Fettsäuren ein Zehntel dieser Menge und entsprechend weniger an Reagentien.) Man fügt 50 ml Wasser und 1 ml 1 m Salzsäure zu, kocht 3 min zur Entfernung von CO_2, verschließt mit einem Natronkalkröhrchen und kühlt ab. Dann gibt man 0,2 ml Phenolrotlösung zu, neutralisiert mit 0,1 n Natronlauge, versetzt mit 150 ml 3,33%iger Lösung von reinstem Natriummetaperjodat, verschließt wieder, läßt 30 min im Dunkeln stehen, gibt zur Zerstörung des Perjodatüberschusses 5 ml Äthylenglykol zu und läßt nochmals 20 min im Dunkeln stehen. Danach titriert man die Ameisensäure mit 0,1 n Natronlauge bis zur ausgesprochenen Rosafärbung, wobei man CO_2-freien Stickstoff durch die Lösung leitet. Eine Blindbestimmung wird gleichzeitig ausgeführt. 1 ml 0,1 n Natronlauge entspricht 9,209 mg Glycerin. Die bei *Seifenrohlauge, Seifenlauge und Seife* gefundenen Werte stimmen mit den nach der Acetin- oder Dichromatmethode erhaltenen sehr gut überein. H. Freytag.

Eine colorimetrische Bestimmungsmethode für Glycerin beschreiben H. D. Reese und M. B. Williams[3]. Hiernach kann Glycerin in einer wäßrigen Lösung in einem Konzentrationsbereich von 1—13000 μg/ml bestimmt werden. Das Verfahren beruht auf der Oxydation des Glycerins mit Kaliumdichromat in schwefelsaurer Lösung und Reaktion des überschüssigen Kaliumdichromats mit s-Di-

[1] Analyt. Chemistry **26**, 575—576 (1954). Mare Island Nav. Shipyard, Vallejo, Calif. (USA).

[2] Analyst (London) **78**, 630—636 (1953). Imp. Chem. Ind., Stevenston, Ayrs. und Unilever, Ltd., Port Sunlight, Ches. (England).

[3] Analyt. Chemistry **26**, 568—570 (1954). State College, Corvallis, Ore. (USA).

phenylcarbazid unter Bildung einer violettgefärbten Lösung, deren Absorption bei 540 mμ ohne Störung durch das grüne Cr^{III}-Ion photometrisch bestimmt wird. Der weite Bereich der Glycerinkonzentrationen, der durch diese Methode erfaßt wird, erfordert verschiedene Kaliumdichromatkonzentrationen. Bei einem Glyceringehalt der wäßrigen Lösung von 13,4 mg/ml werden z. B. 10 g/100 ml, bei einem solchen von 0,0134 mg/ml 0,01 g/100 ml Kaliumdichromat benötigt. Das Maximum an Glycerinkonzentration, das durch eine beliebige Dichromatmenge bestimmt werden kann, läßt sich stöchiometrisch leicht berechnen. — *Arbeitsweise.* Zu 10 ml Glycerinlösung (etwa 1 mg/ml) gibt man 10 ml Dichromatlösung (1 g/100 ml) und versetzt unter Rühren mit 20 ml konz. Schwefelsäure. Anschließend bringt man die Mischung 5 min in ein siedendes Wasserbad. Danach kühlt man ab, füllt in einem Meßkolben auf 2 Liter auf, nimmt 5 ml davon ab, versetzt sie mit 2,9 ml 6 n Schwefelsäure und 1,0 ml s-Diphenylcarbazidlösung und füllt auf 100 ml auf. Nach kräftigem Schütteln mißt man die Absorption bei 540 mμ innerhalb von 10 min gegen eine Vergleichslösung aus s-Diphenylcarbazid und 0,2 n Schwefelsäure. Die Konzentration von Chrom und daraus die an Glycerin kann dann mit Hilfe des Lambert-Beerschen Gesetzes berechnet werden. Werden die Versuchsbedingungen, vor allem die Erwärmungszeit von 5 min genau eingehalten, so verläuft die Glycerinoxydation quantitativ. Allerdings werden oft etwas zu niedrige Werte gefunden. — Der Nachteil der Methode ist, daß andere oxydable Verbindungen vorher entfernt werden müssen. Große Mengen Mo^{VI}, Hg^{I} und Hg^{II}, Fe^{III} und V^{V} verursachen Farbreaktionen mit s-Diphenylcarbazid. Aber geringe Mengen dieser Metalle in 0,2 n-Säure stören nicht. Neutralsalze stören bis zu einer Konzentration von 5% ebenfalls nicht. H. Specker.

Über die photometrische Bestimmung von Glycerin als Natrium-Kupfer-Glycerinkomplex berichtet F. Spagnolo[1]. — *Arbeitsweise.* 10 ml einer neutralen, 18—64 mg Glycerin enthaltenden wäßrigen oder alkoholischen Lösung versetzt man in einem 100 ml-Meßkolben mit 10 ml einer 21%igen Natronlauge, 60 ml 95%igem Äthylalkohol und 6 ml einer 10%igen äthanolischen Lösung von $CuCl_2 \cdot 2\,H_2O$, schüttelt 2 min und füllt mit Alkohol bis zur Marke auf. Die abzentrifugierte, klare Lösung wird dann in 5 cm-Küvetten übergeführt und der blaue Natrium-Kupfer-Glycerinkomplex innerhalb 15 min bei 635 mμ gegen eine glycerinfreie Blindlösung als Bezugssubstanz photometriert. Die Eichkurve verläuft im Bereich von 17—65 mg Glycerin in 100 ml geradlinig. Äthylenglykol und 1,2-Propylenglykol reagieren ähnlich unter Bildung blauer Komplexe und stören die Bestimmung. Eine Reihe anderer Glykole übt dagegen keinen Störungseinfluß aus. Die Genauigkeit der Bestimmung beträgt etwa $\pm 2\frac{1}{2}$% des Glyceringehaltes. Die Arbeit enthält ferner Vorschriften über die *Glycerinbestimmung in Glycerinestern und harzartigen Produkten.* H. Zettler.

Für den Nachweis von Polyalkoholen in Mischung mit Wasser oder anderen Lösungsmitteln kann nach F. Buscarons, J. L. Marín und J. Claver[2] die Überführung in den roten *Vanadin-Oxinkomplex* dienen. Die Reaktion ist von den Verff. schon früher[3] zum spezifischen Nachweis einfacher Alkohole, Ätheralkohole und Ketoalkohole empfohlen worden. Die Reaktion tritt auch in Lösungsmittelgemischen ein, jedoch muß der Anteil des organischen Lösungsmittels gegenüber der wäßrigen Phase mindestens 50% betragen. Polyalkohole mit einer starken

[1] Analyt. Chemistry **25**, 1566—1568 (1953). Nation. Lead Co., Brooklyn, N. Y.

[2] An. Real Soc. españ. Física Quím., Ser B **49**, 367—374 (1953). Inst. „Alonso Barba", Univ. Barcelona (Spanien).

[3] Anal. chim. Acta (Amsterdam) **3**, 310, 417 (1949); vgl. diese Z. **130**, 369 (1949/50); **131**, 149 (1950).

Anhäufung von Hydroxylgruppen, unlöslich in polaren organischen Lösungsmitteln und einer Löslichkeit in Wasser unter 50% geben die Reaktion nicht. In Lösungsmittelgemischen muß die Grundkonzentration des Alkohols 1,5–2,5% betragen. Bei wäßrigen Lösungen fügt man eine organische Lösungsmittelmenge zu, die 50% des Wassergehaltes überschreitet. Hier ist eine Alkoholkonzentration von 2,5–5% erforderlich. Polyalkohole können auf dem Wasserbad konzentriert werden. Die Einzelheiten der Durchführung des Nachweises sind bereits in den früheren Mitteilungen angegeben worden[1]. IRMGARD SCHWEITZER.

Ein neues, für Polyalkohole und Ketosen spezifisches Sprühreagens fand P. GODIN[2] in einer unmittelbar vor dem Gebrauch herzustellenden Mischung gleicher Volumina 1%iger äthanolischer Vanillinlösung und 3%iger wäßriger Perchlorsäure. Das trockene Papierchromatogramm zeigt nach dem Besprühen und 3–4 min langem Erwärmen auf 85° C auf blaß sandfarbigem Grunde bei *Glycerin*, *Erythrit*, *Xylit*, *Arabit*, *Adonit*, *Mannit und Sorbit* blaßblaue bis rotlila Flecke, die alle rasch in ein blasses Graublau übergehen. Inosit, Dioxyaceton, die Aldopentosen und -hexosen reagieren nicht, ausgenommen *Rhamnose*, die sich ziegelrot färbt. *Sorbose* und *Fructose* geben tief graugrüne, von denen der Polyalkohole leicht unterscheidbare Flecke. Die Erfassungsgrenzen sind für die Ketohexosen 0,005 mg, für Hexite 0,015 mg, für Rhamnose und Pentite 0,020 mg, für Erythrit 0,025 mg und für Glycerin 0,030 mg. Da Phenole und einige Indolverbindungen ebenfalls Farbreaktionen geben, kann die Entwicklung der Chromatogramme nicht mittels Phenol oder Kresol erfolgen. *Malonsäure* und *Gluconsäure* geben die gleiche Farbe wie die Polyole. Säuren und Basen müssen vor der Chromatographierung durch Behandlung mit Ionenaustauschern entfernt werden. K. SÖLLNER.

Zum papierchromatographischen Nachweis von Phosphorsäureestern entwickelten E. FLETCHER und F. H. MALPRESS[3] eine enzymatische Methode unter Verwendung einer nach G. SCHMIDT und S. J. TANNHAUSER[4] bereiteten Lösung von alkalischer Phosphomonoesterase zum Freisetzen von Orthophosphat. — *Arbeitsweise.* Man benutzt ein Whatman-Papier Nr. 1 von 28 cm², das 10 Std mit 0,1 n Salzsäure gewaschen, darauf mit Wasser gespült und bei 70° C getrocknet wird. Zur zweidimensionalen Entwicklung verwendet man die Lösungsmittel nach R. S. BANDURSKI und B. AXELROD[5], die nur insofern abgeändert werden, als die Ameisensäure durch das gleiche Volumen Essigsäure im sauren Lösungsmittel ersetzt wird und man zuerst mit dem basischen entwickelt. Nach der Entwicklung trocknet man das Papier an der Luft bei Raumtemperatur, legt es auf eine etwas größere Glasscheibe und besprüht mit 10 ml einer 5%igen Lösung von Calciumchloridhexahydrat in 80%igem Äthanol. Den Alkohol läßt man verdampfen, sprüht dann mit 10 ml Phosphataselösung in 0,1 m Glycinpufferlösung (p_H 9), bedeckt mit einer zweiten Glasscheibe, bebrütet 4 Std bei 37° C und besprüht danach mit 3 ml einer 5%igen Ammoniummolybdatlösung in 20 Vol%iger Salzsäure. Es tritt sofort Gelbfärbung auf, wo Orthophosphat (entsprechend 1 μg oder mehr Phosphor) frei geworden ist. Man läßt 2 min stehen, sprüht sodann mit 5 ml einer Lösung von 50 mg Benzidinhydrochlorid in 10 ml Eisessig und 90 ml Wasser und bedampft 1 min mit Ammoniak in etwa 5 cm Entfernung von einer im Trog befindlichen Ammoniaklösung (D 0,880, 1 : 4 verdünnt). Die Tüpfel färben sich

[1] Anal. chim. Acta (Amsterdam) **3**, 310, 417 (1949); vgl. diese Z. **130**, 369 (1949/50); **131**, 149 (1950).

[2] Nature (London) **174**, 134 (1954). Univ. Löwen (Belgien).

[3] Nature (London) **171**, 838–839 (1953). Bedford Coll., London N. W. 1.

[4] J. biol. Chemistry **149**, 369 (1943).

[5] J. biol. Chemistry **193**, 405 (1951); vgl. diese Z. **137**, 312 (1952/53).

blau, bei längerem Bedampfen nimmt die Färbung wieder ab. Es ließen sich so noch 0,5 μg Phosphor nachweisen. Untersucht wurden nach dieser Methode mit Erfolg: *Natriumglycerinphosphat*, *3-Phosphoglycerinat*, *Glucose-1-phosphat* und *Adenosin-5-phosphat*. H. Freytag.

Die Ultrarotspektren anomerer Zucker und ihrer Derivate können nach R. L. Whistler und L. R. House[1] als Hilfsmittel zur Identifizierung der α- und β-Isomeren benutzt werden. Die Verfasser bestimmten die Ultrarotabsorption bei einer großen Zahl reiner α- und β-Isomerer, darunter freier und acetylierter Pentosen und Hexosen, acetylierter Glycero-Heptosen, Methylpentoside und -hexoside, Triacetylmethylpentoside und Tetraacetylmethylhexoside und schließlich Phenylpentoside und -hexoside. Die Spektren der einzelnen Anomeren zeigen keine derart charakteristischen Schlüsselbanden, daß eine eindeutige Zuordnung beliebiger Zucker zur α- oder β-Form möglich wäre. Innerhalb der genannten Verbindungsgruppen ist aber die UR-Absorption der jeweiligen Anomeren in gewissen Spektralbereichen (ausführliche Tabelle im Original) in charakteristischer Weise verschieden, besonders ausgeprägt bei den Phenylglucosiden in den Bereichen von 11,61—11,73 μ und von 12,15—12,25 μ. Somit ist die Konfiguration am C_1 in vielen Fällen an Hand der UR-Absorption mit einiger Sicherheit bestimmbar, wenn man den vorliegenden Zuckertypus kennt. — Die Spektren wurden in Nujol-Aufschlämmung mit einem Doppelstrahlspektrometer gemessen und nach dem Grundlinienverfahren ausgewertet. Die Verff. beschreiben eine Küvette, die Probenwechsel ohne Veränderung der Schichtdicke erlaubt. H. Specker.

Eine qualitative Probe auf Monosaccharide. die auf einer Farbreaktion mit 5-Oxymethylfurfurol beruht, wird von R. M. Love[2] mitgeteilt. Danach lassen sich in Abwesenheit von Pentosen, Polysacchariden und Ketohexosen die drei Aldohexosen wie folgt unterscheiden. 1 ml 5-Oxymethylfurfurollösung (nach W. N. Haworth und W. G. M. Jones[3] hergestellt, 2 mal bei 0,1 mm Hg destilliert), die 1 mg ml dest. Wasser enthält, wird in einem Reagensglas mit 1 ml Zuckerlösung (0,2 –4,0 mg/ml) versetzt und in Eiswasser gestellt. Unter ständigem Schütteln werden 2 ml Schwefelsäure (D 1,84) zugesetzt, bis zur völligen Abkühlung weitergeschüttelt und noch 4 ml Säure zugefügt. Eine rosa Färbung zeigt *Mannose* an. Bleibt die Lösung farblos, wird im kochenden Wasser 3 min erhitzt und dann gekühlt. Eine rosa Farbe zeigt nun *Glucose*, eine braune *Galactose* an. — *Fructose* und *Sorbose* ergeben sofort bei Zusatz der Schwefelsäure eine schwach gelbe Farbe. Erhitzen wie oben gibt bei Fructose eine gelbrosa bei Sorbose eine braune Farbe. *Ribose* und *Lyxose* geben in der Kälte rosa Färbungen, die bei Konzentrationen über 0,3 bzw. 0,2 mg/ml sichtbar werden und sich beim Stehen vertiefen. *Xylose* gibt zunächst keine Färbung, abgesehen von einem Dunklerwerden der Lösung bei Konzentrationen über 5 mg/ml; nach 30 min tritt jedoch bei Zimmertemperatur eine zartrosa Farbe auf. — *Arabinose* reagiert überhaupt nicht. Oligo- und Polysaccharide verhalten sich wie die Mischungen ihrer Monosaccharidelemente; ihre Charakterisierung ist daher unbefriedigend. – *Sorbit* und *Mannit* geben eine schwach rosa Farbe und *Galacturonsäure* wird beim Erhitzen tief rosa. Gluconsäure und Glucosamin geben überhaupt keine Farbe. *Rhamnose* wird beim Erhitzen grünlichbraun. — Proteine stören und müssen mit Trichloressigsäure entfernt werden. Th. Breyhan.

Über eine neue Farbreaktion zur Erkennung und Bestimmung von Hexosen berichten B. Klein und M. Weissman[4]. Diese beruht auf der Ausbildung einer

[1] Analyt. Chemistry **25**, 1463 –1465 (1953). Purdue University, Lafayette, Ind.
[2] Analyst (London) **78**, 732 –733 (1953). Torry Res. Station, Aberdeen (Schottland).
[3] J. chem. Soc. (London) **1944**, 667.
[4] Analyt. Chemistry **25**, 771—774 (1953). Veterans Admin. Hospital, Bronx, N.Y.

violetten Farbe bei der Einwirkung einer 15 m schwefelsauren Lösung von Chromotropsäure auf Hexosen. Hierbei werden die Hexosen in 5-Oxymethylfurfurol umgewandelt, wobei sich die Methylolgruppe abspaltet und Formaldehyd bildet, der mit der Chromotropsäure die violette Färbung ergibt. Pentosen, die unter den gleichen Bedingungen Furfurol abspalten, wobei naturgemäß kein Formaldehyd entsteht, können mit dieser Reaktion nicht nachgewiesen werden. — *Arbeitsweise.* Chromotropsäurereagens: 100 mg 1,8-Dioxynaphthalin-3,6-disulfosaures Natrium werden in 1 ml dest. Wasser gelöst und auf 50 ml mit 15 m Schwefelsäure verdünnt. Das Reagens muß stets frisch hergestellt werden. — Zur *Bestimmung der Glucose im Blutserum* werden 5 ml des Reagenses zu 1 ml einer proteinfreien Serumlösung (1:10) zugesetzt. Man erhitzt 30 min im Wasserbad, ergänzt nach dem Abkühlen mit 9 m Schwefelsäure auf 10 ml und bestimmt die optische Dichte bei 570 mμ in einem Spektrophotometer. Die Vergleichskurven werden mit Lösungen von 0,050—0,30 mg/ml Glucose erhalten. Die Enteiweißung des Serums wird nach bekannten Methoden vorgenommen. E. Baertich.

Analysen von Hexosephosphaten und Zuckermischungen mit dem Anthronreagens werden von L. C. Mokrasch[1] beschrieben. — Es können Fructose, Fructose-6-phosphat und Fructose-1,6-diphosphat bestimmt werden. Entsprechende Farbentwicklungen werden auch für Glucose, Glucose-6-phosphat und Glucose-1-phosphat erhalten. Die Beobachtung von L. H. Köhler[2], wonach verschiedene Kohlenhydratklassen durch die zur maximalen Farbentwicklung erforderliche Zeit bestimmt werden können, dienen als Grundlage der neuen Methode zur gleichzeitigen Bestimmung eines Gemisches zweier Kohlenhydrate. — *Farbreagens.* 1 l Schwefelsäure wird mit 290 g Eis gemischt und 1,0 g Anthron in der abgekühlten Mischung gelöst (das Reagens ist bei 4° C im Dunkeln zwei Monate beständig). — *Farbentwicklung.* 6 ml des Farbreagenses werden in das Colorimeterglas gebracht und 5 min in Eiswasser gestellt. Darauf wird 1 ml der Probe (mit bis zu 0,25 μmol Ketohexose, 0,4 μmol Aldohexose, 1,0 μmol Pentose) zugesetzt und erst dann unter kräftigem Rühren gemischt, wenn sich die Probe abgekühlt hat. Die durch (mit Capillaren versehene) Stopfen verschlossenen Gläser werden im Wasserbad auf 80 ± 0,5° C erhitzt. Nach der gewählten Zeitlänge des Erhitzens (3—25 min) kommen die Gläser in das Eiswasser zurück, wo sie mehrere Stunden bis zur Messung im Spektralphotometer bei 620 mμ verbleiben können. In der Arbeit werden Kurven über die Farbentwicklung in Abhängigkeit von der Zeit gebracht. Nach diesen Kurven sind Glucose und die Glucosephosphate nach 25 min mit ausreichender Genauigkeit bestimmbar. Andere Aldohexosen verhalten sich wie Glucose, geben aber geringere Anfärbungen. Rhamnose und Fucose liegen in ihrem Verhalten zwischen Aldohexosen und Aldopentosen in bezug auf Zeit bis zur maximalen Farbentwicklung und zeigen Intensitäten, die äquivalenten Fructosemengen vergleichbar sind. Die Farbkurven von Di- und Trisacchariden sind die gleichen wie die äquivalenter Gemische der ihnen entsprechenden Hexosen. — Bei der gleichzeitigen Bestimmung von Glucose und Ribose werden Erhitzungszeiten von 4 und 25 min gewählt, bei der von Glucose und Fructose 3 und 25 min. Dementsprechend gelten für die jeweils vorhandenen Glucose- und Fructosemengen die Beziehungen:

$$C_F = \frac{D_3 - k_3 D_{25}}{E_F (1 - k_F k_3)}$$

und

$$C_G = \frac{D_{25} - k_F D_3}{E_G (1 - k_F k_3)}.$$

[1] J. biol. Chemistry **208**, 55—59 (1954). Univ. Madison, Wisc. (USA).
[2] Analyt. Chemistry **24**, 1576 (1952); vgl. diese Z. **141**, 157 (1954).

Es bedeuten: C_F bzw. C_G die Mikromole Fructose bzw. Glucose in 1 ml Lösung, E_F bzw. E_F die Extinktionen eines Mikromols Fructose oder Glucose nach 3 und 25 min, D_3 und D_{25} die gemessenen Extinktionen nach 3 bzw. 25 min. $k_G = D_3/D_{25}$ für Glucose, $k_F = D_{25}/D_3$ für Fructose. Entsprechende Relationen gelten für ein Gemisch von Ribose und Glucose. Die Reaktion wird durch Alkali-, Erdalkali-Ionen und einige Anionen nicht beeinträchtigt. NO_2^- und N_3^- stören sehr. Glycerinaldehyd und Dioxyacetonphosphat stören ebenfalls. TH. BREYHAN.

Zur Bestimmung von Hexosediphosphat (HDP) als Fructose entwickelte J. KAHAN[1] eine Methode, die auf der Anthronreaktion von Kohlenhydraten nach R. DREYWOOD[2] beruht und von J. KAHAN[3] bereits zur Glykogen- und Glucosebestimmung verwendet worden ist. — *Arbeitsweise.* 1,5 ml Lösung mit 5—400 μg HDP werden mit 0,5 ml Anthronreagens (2%ig in Äthylacetat) versetzt, mit 6 ml konz. Schwefelsäure unterschichtet und vorsichtig gemischt, bis eine homogene grüne Lösung entstanden ist, die nach 20 min bei 625 mμ gegen einen Leerwert aus Wasser und Reagens colorimetriert wird[3]. Der Fehler beträgt 2,4%; es besteht vollkommene Übereinstimmung mit den theoretischen Werten. Zur Bestimmung in *biologischem Material* wird als Beispiel die Untersuchung von Mäuselebern gegeben. Die Leber wird in situ gefroren, pulverisiert, mit eiskalter Trichloressigsäure extrahiert und mit Barium nach G. A. LE PAGE[4] fraktioniert. Die Barium- und die alkoholunlösliche Fraktion werden nach vorstehender Vorschrift und nach J. H. ROE[5] auf Fructose untersucht. Werden die letzten Werte entsprechend korrigiert, so ergibt sich gute Übereinstimmung. Für ATP und ADP muß entsprechend dem Ribosegehalt ein Abzug gemacht werden. K. HINSBERG.

Einen Bericht über Mikromethoden bei Zuckeranalysen gibt B. K. GOSS[6]. Ausgehend von der Methode der Differenzierung von Kohlenhydraten mittels des Anthronreagenses nach Zeit und Farbintenität von L. H. KOEHLER[7] wird eine Methode beschrieben, bei der unter sorgfaltiger Berücksichtigung der Art des Erhitzens und der Abkühlung der Reaktionslösungen gearbeitet wird. Die Colorimetrie von Anthronpraparaten verschiedenen Reinheitsgrades im Vergleich zu einem Handelsprodukt, dessen schwefelsauren Lösungen (5 ml) jeweils 2,5 ml Wasser zugesetzt und die bei 635 mμ gemessen werden, zeigen so geringe Abweichungen, daß dem Reinheitsgrad des verwendeten Anthrons fehlerhafte Resultate nicht zuzuschreiben sind. Ein Umkristallisieren ist deshalb nicht erforderlich. Die Anthronlösungen sind trotz Aufbewahrung im Eisschrank nicht lange haltbar, und geben nur über 4 Tage hin konstante Werte. — *Ausführung.* Zu 2,5 ml Glucoselösung in einem Reagensglas (170 × 20 mm) in Eiswasser werden unter Schütteln 5 ml Anthronreagens (0,2%ige Lösung von Anthron in 95%iger Schwefelsäure) aus einer Pipette zugesetzt. Dann wird genau 10 min in kochendes Wasser und anschließend genau 5 min in Eiswasser gebracht. Darauf läßt man bei Zimmertemperatur an der Luft stehen und mißt im Colorimeter bei 635 mμ gegen eine Blindlösung. Bei Serien achte man darauf, daß jede Lösung die gleiche Zeit an der Luft steht. —

[1] Arch. Biochem. Biophysics **48**, 331—337 (1954). Fac. Med., Stockholm.

[2] Ind. Engng. Chem., anal. Edit. **18**, 499 (1946).

[3] Arch. Biochem. Biophysics **47**, 408 (1953).

[4] Siehe UMBREIT, W. W., R. H. BURRIS and J. F. STAUFFER: Manometric Techniques and Tissue Metabolism, 2nd Ed. Minneapolis: Burgess 1949.

[5] J. biol. Chemistry **107**, 15 (1934).

[6] J. Assoc. off. agric. Chemists **37**, 287—291 (1954). National Bureau of Standards, Washington, D.C.

[7] Analyt. Chemistry **24**, 1576 (1952); vgl. diese Z. **141**, 157 (1954).

Messungen zweier Analytiker an den gleichen Lösungen von Glucose, aber an verschiedenen Geräten bei 635 mμ und am anderen Gerät bei 660 mμ zeigen, daß die Werte nicht vergleichbar sind, jedoch zur Aufstellung von Eichkurven für die einzelnen Geräte dienen können, da sie die erwartete Genauigkeit der Methode beweisen. — Somogyis Phosphatreagens: Vergleichende Untersuchungen zwischen dem Carbonat- und Phosphatreagens zeigen, daß das letzte vorzuziehen ist. Die Untersuchungen darüber werden aber fortgesetzt. Th. Breyhan.

Die Papierelektrophorese von Zuckern bei hohem Potentialgefälle zeichnet sich nach D. Gross[1] vor der bei niedrigem Potentialgefälle durch bessere Trennwirkung und wesentliche Zeitersparnis aus. Verf. führte Versuche mit Mischungen verschiedener Zucker auf etwa 4 × 60 cm großen Papierstreifen (Whatman Nr. 1) mit einem Gefälle von 40 V/cm durch (0,05 m Natriumboratlösung vom p_H-Wert 9,2), wobei in 1,5 Std Rohrzucker, Raffinose, Stachyose, Melibiose und Glucose + Fructose deutlich getrennt waren. Raffinose wandert eigenartigerweise schneller zur Anode als Rohrzucker; Glucose und Fructose trennen sich nicht voneinander (Trennung aber bei tieferem p_H-Wert möglich). Die praktische Durchführung erfordert gute Kühlung. Man erreicht diese, wenn man das Papier zur Isolierung zwischen dünne Kunststoffolien legt, das Ganze in Kupferbleche klemmt und außen Leitungswasser vorbeiströmen läßt. F. Neumann.

Über die Trennung methylierter Zucker an Kohlensäulen berichten B. Lindberg und B. Wickberg[2]. Ein Gemisch von Glucose, 3-O-Methylglucose, 2,3-Di-O-methylglucose, 2,3,6-Tri-O- und 2,3,4,6-Tetra-O-methylglucose (0,5 g von jedem Zucker) wird auf eine Kohle-Celite-Säule gebracht und mit Äthanol zunehmender Konzentration eluiert. Die quantitative Auswertung der einzelnen Eluate durch Messung der optischen Drehung und deren graphische Darstellung in Abhängigkeit von der Äthanolkonzentration und Menge des Eluates bringt eine gute Trennung der ersten 4 Bestandteile des Gemisches. Die Tetramethylglucose ist jedoch über ein großes Elutionsvolumen verteilt. Günstigere Ergebnisse erreicht man hier durch eine steilere Zunahme der Äthanolkonzentration beim Eluieren. Ein Nachteil der Verwendung von wäßrigem Äthanol als Eluens ist die Zunahme der Viscosität der durchfließenden Lösungen und die dadurch verursachte Durchflußverzögerung, die zu Fehlern führen kann. Die Verwendung von Methyläthylketon als Eluens wirkt sich bei der Trennung der Tri- und Tetraäther günstig aus. Bei den niederen Gliedern treten aber Komplikationen auf, die ihre Ursachen in der Adsorption des Ketons an der Säule haben. Erst wenn die Säule mit dem Keton fast gesättigt ist, erfolgt eine normale Durchflußtendenz. — An dem Beispiel eines Gemisches von 2,3,6- und 2,3,4-Trimethylglucose wird gezeigt, daß sich auch isomere Zucker an der Kohlensäule quantitativ trennen lassen. Zur Durchführung der Trennung wird eine Säule von 43 × 3,5 cm und Methyläthylketon als Eluens benutzt. Die Substanzen werden in fast quantitativer Ausbeute erhalten. — *Methodisches.* Zur Bereitung der Adsorptionssäulen werden gleiche Teile Tierkohle (p. a., Riedel-De Haën) und Celite Nr. 535 (Johns-Manville) mit konzentrierter Salzsäure behandelt, mit großen Mengen Wasser und Äthanol gewaschen und als dicker Schlamm in die Säulen gegossen. Die kleinen Säulen werden mit kalter, die großen mit kochender Salzsäure behandelt. — Elutionsgradient: Zwei offene zylindrische Gefäße, durch einen Schlauch verbunden, werden mit dem Elutionsmittel gefüllt, das eine mit der niedrigsten Anfangs- und das andere mit der höchsten Endkonzentration. Bei

[1] Nature (London) **172**, 908—909 (1953). Tate and Lyle, Ltd., Ravensbourne, Keston, Kent (England).

[2] Acta chem. scand. (Kopenhagen) **8**, 569—573 (1954). T. H., Stockholm.

gleichem Durchmesser der Gefäße wird ein linearer Gradient und bei Änderung des Durchmessers werden Gradienten von verschiedenen Typen erhalten. Der Inhalt des Gefäßes mit der niedrigeren Konzentration wird langsam gerührt und direkt auf die 3 m tiefer stehende Säule fließen gelassen. — *Durchführung der Trennung:* Die zu trennenden Substanzen (kleine Säule) werden in 10%iger wäßriger Lösung auf die Säule gebracht, mit einer geringen Wassermenge nachgewaschen, Fraktionen gleicher Volumina aufgefangen (je 26,5 ml) und in 20 cm-Rohren die optischen Drehungen gemessen. Zusammengehörende Fraktionen werden vereinigt, im Vakuum zur Trockne verdampft, und die Zuckermenge durch Hypojodittitration und Messung der Drehung bestimmt. Die Reinheit wird durch Papierchromatographie geprüft. TH. BREYHAN.

Eine Methode zur Bestimmung von Glucose in Gegenwart von Maltose veröffentlichen M. KANIE und M. KISANUKI[1]. Verff. verwenden hierzu ein modifiziertes Reagens nach BARFOED und ein Reagens nach HANES und stellen für verschiedene Mischungen von Glucose und Maltose eine Standardkurve auf. Unbekannten Zuckerlösungen wird eine bestimmte Menge Glucose zugesetzt und der entsprechende Reduktionswert aus der Standardkurve abgelesen. Der Glucosegehalt wird nach dieser Methode mit einer Fehlergrenze von 0,015 mg erhalten bei einem Gesamtglucosegehalt von 0,5—2 mg je 2 ml. DORIS HEILIGMANN.

Zur Bestimmung der Fructose auf Grund der Cyanhydrinreaktion empfehlen R. D. COOMBS III, A. R. REID und C. B. PURVES[2] eine Modifikation der Arbeitsweise von V. L. FRAMPTON, L. P. FOLEY, L. L. SMITH und J. G. MALONE[3], da deren Verfahren wohl für Aldosen sehr gute Resultate gibt, bei Ketosen aber je nach der Reaktionsdauer um 110—196% über der Theorie liegende Werte liefert[4]. Die Fehler werden nach COOMBS u. Mitarb.[2] vermieden, wenn man in 0,03 n KCN-Lösung (statt in 0,3 n Lösung bei FRAMPTON u. Mitarb.[3]) arbeitet. Der Anteil des Cyanides, der direkt zu Ammoniak hydrolysiert wird, wird durch geringe Änderungen der Cyanidkonzentration oder durch p_H-Änderungen innerhalb 7,5—11,5 kaum beeinflußt, dagegen merklich durch eine Änderung der Destilliergeschwindigkeit. Ebenso wirken Erhöhung der Temperatur und der Reaktionsdauer störend, so daß sich die Methode nicht als Mikrobestimmung eignet. Anwesenheit von Cellulose verringert die Hydrolyse des Cyanides. *Ausführung.* Eine Lösung von 0,101 g reiner Fructose (0,561 Millimole) wurde in 100 ml frisch bereitete 0,00982 n KCN-Lösung (75% Überschuß) gegeben, mit Essigsäure auf p_H 8 gepuffert und 48 Std bei 45° C gehalten. Anschließend wurde durch Zusatz von n NaOH-Lösung der p_H-Wert auf 11,5 erhöht. Die Lösung wurde in eine Vorlage mit 100 ml 0,01 n Schwefelsäure destilliert, wobei die Destillationsgeschwindigkeit streng kontrolliert wurde. Wenn sich 50 ml Destillat angesammelt hatten (in etwa 25 min), wurde gegen Methylrot oder Methylpurpur mit eingestellter Alkalihydroxydlösung titriert. Berechnung: $x = y - z(w - x)/w$ oder $x = w(y - z)/(w - z)$. Darin bedeuten w und x die ursprünglich vorhandenen Millimole Cyanid und Fructose, y und z die Millimole Ammoniak im Haupt- und im Blindversuch. Die Fehlergrenze beträgt ±3%. DORIS HEILIGMANN.

[1] J. agric. chem. Soc. Japan **27**, 712—716 (1953) [Japanisch]. (nach engl. Zus. fass. ref.) Univ. Kagoshima (Japan).

[2] Analyt. Chemistry **25**, 511—512 (1953). Inst. Technol., Cambridge, Mass. (USA) und McGill Univ., Montreal (Canada).

[3] Analyt. Chemistry **23**, 1244 (1951); vgl. diese Z. **142**, 313 (1954).

[4] Vgl. auch W. MILLITZER, Arch. Biochemistry **9**, 91 (1946); **21**, 143 (1949); A. R. YUNDT, Tappi **34**, 95 (1951).

Eine Methode zur jodometrischen Bestimmung von Aldosen, insbesondere Mannose entwickelte J. R. Collins[1]. Das Verfahren beruht auf der Oxydation der Aldosen durch Hypojodit und wird durch verschiedene Faktoren wie Alkalität, Jod- und Jodidkonzentration, Zeit und Temperatur beeinflußt. Verf. konnte die für die Bestimmung günstigsten Bedingungen ermitteln. Die Methode kann zur Bestimmung von *Mannose* aus Mischungen wie Mannose Fructose sowie von *Glucose* und ferner von *l-Arabinose, Galactose, Cellobiose, Lactose* und *Maltose* angewandt werden. *Arbeitsweise.* In einer Stöpselflasche setzt man zu 0,0125 Mol Zucker (0,225 g einer Hexose) je 55 ml einer n Sodalösung und einer 0,1 n Jodlösung (die letzte enthält 60 g KJ im Liter). Man hält die Lösung 30 min bei 20° C unter Ausschluß des Sonnenlichtes, säuert dann mit 6 n Salzsäure an und titriert den Jodüberschuß mit 0,1 n $Na_2S_2O_3$-Lösung zurück, deren Verbrauch zwischen 28 ml und 32 ml liegen soll. Den Jodverbrauch t erhält man aus der Differenz zwischen diesem Titrationswert und einem Blindwert. Nach folgender Beziehung läßt sich dann der Prozentgehalt p_M an Mannose oder p_G an Glucose berechnen: $t = 0{,}45 + 0{,}2445\ p_M$ oder $t = 0{,}45 + 0{,}2490\ p_G$. Doris Heiligmann.

Die Bestimmung von Dextran mit Anthron, die von T. A. Scott jr. und E. H. Melvin[2] ausgearbeitet wurde, beruht auf der Nachweisreaktion für Kohlenhydrate von R. Dreywood[3]. — *Ausführung.* Man hängt einen Drahtkorb mit den Reagensröhren in ein Bad mit rasch fließendem Wasser von 10—15° C. Aus einer Pipette, die so geeicht ist, daß 10 ml konz. Schwefelsäure in 20—30 sec auslaufen können, gibt man in jedes Reagensglas je 10 ml Anthronreagens (0,2%ig in konz. Schwefelsäure). Die Gläser bedeckt man lose mit Käppchen. Hierauf überschichtet man in jedem Glas die Reagenslösung mit 5 ml der Probe (2—4 mg 100 ml), einschließlich zwei Blindproben, (5 ml dest. Wasser) und zwei Glucose- oder Dextranstandardlösungen. Dann schüttelt man jedes Reagensglas kräftig im Wasserbad, bis die Gemische wieder Raumtemperatur aufweisen, setzt den Korb mit den Gläsern für 16 min in ein Bad von 90° C und gibt ihn dann wieder in das frühere zurück, um auf Raumtemperatur abzukühlen. Man bestimmt sofort die Absorption der Proben, in einer 1 cm-Zelle gegen Wasser als Vergleichslösung. Sobald die Absorptionswerte der Blindproben um mehr als 0,005 Einheiten differieren, benutzt man den kleineren Wert. Die Dextrankonzentration C der Prüflösung (die gegebenenfalls mit dem Verdünnungsfaktor multipliziert werden muß, wenn Verdünnung erforderlich war) errechnet sich in Milligramm aus der Formel $C_x = C_{St} \cdot (D_x - D_B)/(D_{St} - D_B)$. (Es bedeuten: C_{St} die Konzentration des Dextranstandards [bei Benutzung von Glucose ist deren Konzentration durch Multiplizieren mit 0,9 auf Dextran umzurechnen], D_x die Absorption der Probe, D_B die der Blind- und D_{St} jene der Standardlösung). Die Genauigkeit der Methode ist durch eine Standardabweichung von 0,48% gekennzeichnet. H. Freytag.

Kaliumgluconat wird nach Untersuchungen von F.-E. Raurich Sas und M. Castillo Cofiño[4] durch 0,1 n Permanganatlösung quantitativ nach der Gleichung: $2\ KC_6H_{11}O_7 + 12\ KMnO_4 = 7\ K_2CO_3 + 5\ CO_2 + 4\ MnO_2 + 4\ Mn_2O_3 + 11\ H_2O$ oxydiert. 1 Mol Gluconat verbraucht also 6 Mole Permanganat.

Irmgard Schweitzer.

[1] Anal. chim. Acta (Amsterdam) **9**, 500—506 (1953). Courtaulds Ltd., Maidenhead, Berks. (England).

[2] Analyt. Chemistry **25**, 1656—1661 (1953). North. Region. Res. Lab., Peoria, Ill.

[3] Ind. Eng. Chem., anal. Edit. **18**, 499 (1946).

[4] An. Real Soc. españ. Física Quím., Ser B **49**, 387—390 (1953). Inst. „Alonso Barba", Univ. Barcelona (Spanien).

Aldonsäuren (*d-Gluconsäure-δ-lacton, d-Galactonsäure-γ-lacton, d-Mannon-γ-lacton, Lactobionsäure-δ-lacton, Natriumgluconat, saures Kaliumsaccharat* und *Kaliumarabonat*) lassen sich nach J. V. Karabinos, A. T. Ballun und R. L. McBeth[1] im alkalischen Gebiet mit Calciumchloridlösung titrieren. *Arbeitsvorschrift.* Etwa 1 Millimol der betreffenden Verbindung wägt man genau in einen 125 ml-Erlenmeyerkolben ein und löst in 10 ml einer 3%igen Natronlauge. Dann titriert man langsam mit einer 0,106 m Calciumchloridlösung (15 g $CaCl_2 \cdot 2\,H_2O$ in 1 Liter Wasser gelöst und über das Oxalat permanganometrisch eingestellt) bis zur deutlichen Trübung. Der Endpunkt ist erreicht, wenn diese bestehen bleibt und die Lösung beim Stehen opalescenter wird. Der p_H-Wert von 12,4 verändert sich während der Titration nicht wesentlich. H. Freytag.

Ein neues Sprühreagens zum Nachweis von Kohlenhydraten beschreiben R. U. Lemieux und H. F. Bauer[2]. Es besteht aus einer frisch bereiteten Mischung von 4 Teilen 2%iger wäßriger Na-Metaperjodatlösung und 1 Teil einer 1%igen Lösung von Kaliumpermanganat in 2%iger wäßriger Sodalösung. Beim Aufsprühen von 1 ml der Mischung auf etwa 50 cm² Whatman-Nr. 1-Papier bilden sich, nachdem dieses bei Raumtemperatur in ein geschlossenes Gefäß gehängt wurde, nach kurzer Zeit grünlichgelbe Flecke. Nachdem durch Waschen mit Wasser der Überschuß des Reagenses entfernt wurde, gehen die Flecken in Braun auf weißem Grund über. 2—3 μg *Glucose, Xylose, Ascorbinsäure, Sorbose, Maltose, Cellobiose* und olefinische Verbindungen, wie *Crotonsäure*, können sicher nachgewiesen werden. *Glucuronlacton, 3-Methylglucose, Mannit, Erythrit, Äthylenglykol, Xylonolacton* und *Weinsäure* lassen sich noch in Mengen von 5—8 μg erkennen, während von *β-Methylglucopyranosid, Sucrose, Trehalose, Pentaerythrit, 2,3,4,6-Tetramethylglucose, 2,3-Butandiol* und *Milchsäure* noch 10—15 μg positive Reaktion geben. K. Söllner.

Zur Erkennung und Bestimmung von Polyoxyverbindungen und Oxyaminen untersuchen S. L. Tompsett und D. C. Smith[3] den oxydativen Abbau primärer Alkoholgruppen mit Perjodsäure zu Formaldehyd, der nach Destillation an Sulfit gebunden und nach der Vorschrift von W. H. Daughaday, H. Jaffe und R. H. Williams[4] mit Chromotropsäure photometrisch bestimmt wird. In Abbauversuchen mit verschiedenen Verbindungen wird gezeigt, daß Geschwindigkeit und Vollständigkeit der Formaldehydabspaltung von den Arbeitsbedingungen und von der Struktur der betreffenden Substanz abhängig sind. Zur Anwendung kam ein „kaltes" Verfahren (Raumtemperatur) in neutraler bzw. saurer und ein „heißes" Verfahren (100° C) in saurer Lösung. Untersucht wurden *Serin, Aminoäthanol, Mannit, Erythrit, Xylose, Arabinose, Ribose, Glucose, Galactose, Fructose, Glucosaminhydrochlorid, Lactose, Maltose, Ascorbinsäure, Dioxyaceton, Glycerinsäure, Stärke, Natriumglycerinphosphat, Ribonucleinsäure* und *Desoxyribonucleinsäure*. — Verff. verwenden die festgestellten Unterschiede bei der Formaldehydabspaltung zur Untersuchung eiweißfreier Extrakte von *menschlichem Blut* und *Urin*. Es wird hierbei nach dem „kalten" Verfahren gearbeitet. Die berechneten Glucosegehalte der *Blut*filtrate stimmen mit den Ergebnissen der Blutzuckerbestimmung nach Hagedorn-Jensen zum Teil gut überein. Auch die Bestimmung von Glucose, Mannit und Serin in *Urin* zeigt befriedigende Ergebnisse. Es wird darauf hingewiesen, daß die Methode durch solche Stoffe gestört werden kann, die mit Formaldehyd stabile Verbindungen eingehen. H. Specker.

[1] Analyt. Chemistry **25**, 1563 (1953). Blockson Chem. Co., Joliet, Ill. (USA).

[2] Analyt. Chemistry **26**, 920—921 (1954). Prairie Regional Lab., Saskatoon, Sask. (Canada).

[3] Analyst (London) **78**, 209—216 (1953). North. General Hospital, Edinburgh.

[4] J. clin. Endocrinol. **3**, 166 (1948).

Die photometrische Bestimmung von Glucosamin mittels Acetylaceton und p-Dimethylaminobenzaldehyd haben R. Belcher, A. J. Nutten und C. M. Sambrook[1] überarbeitet. Arabinose, Galactose, Glucose, Mannose, Glucuronsäure, Alanin, Arginin, Glycin, Lysin, Phenylalanin, Prolin, Serin, Tryptophan und Tyrosin, einzeln oder auch in Gemischen stören die Bestimmungen auch im 20fachen Überschuß nicht. 0,5 μg Glucosamin wird als Bestimmungsgrenze angegeben. Der Analysenfehler liegt je nach dem verwendeten Photometer zwischen 1,9 bis 1,7%.— *Ausführung.* 1 ml neutrale Lösung (mit 10—100 μg Glucosaminhydrochlorid) versetzt man in einem von 1—20 ml graduierten, bei 9—10 ml eine Einschnürung besitzenden Spezialglas mit 1 ml Acetylacetonlösung [1 ml doppelt dest. Acetylaceton (Kp 139—140° C) mit 50 ml n Na_2CO_3-Lösung täglich frisch vermischt] und spült bis auf ein Volumen von 4 ml mit Wasser nach. Jetzt erhitzt man das Glas 10 min lang durch Eintauchen in ein siedendes Wasserbad, füllt nach dem Abkühlen mit Äthylalkohol auf 9 ml auf und erwärmt 5 min in einem Thermostaten bei 75° C. Hierauf fügt man 1 ml p-Dimethylaminobenzaldehydlösung (0,8 g in 60 ml konz. Salzsäure zu, mischt gut durch und erhitzt weitere 30 min bei 75° C unter gelegentlichem Umschütteln. Nach dem Abkühlen füllt man mit Äthanol auf 10 ml auf und mißt die Durchlässigkeit bei 512 mμ in einer 20 mm-Küvette. Die Eichkurve wird mit Glucosamintestlösung von 10—100 μg unter den gleichen Bedingungen aufgestellt. Die Färbung ist mindestens 12 Std konstant. *n-Acetyl-α-methylglucosaminid* muß vor der Bestimmung mit 2 n Salzsäure 2 Std lang unter Rückfluß erhitzt, anschließend mit verdünnter Natronlauge oder Sodalösung auf genau p_H 7,0 neutralisiert und dann wie beschrieben weiterbearbeitet werden. *Heparin* (Na-Salz) muß mindestens 15 Std mit 4 n Salzsäure am Rückfluß erhitzt werden, um nach Neutralisation auf p_H 7 reproduzierbare Werte zu erhalten. H. Pohl.

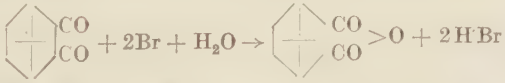
Über die Papierchromatographie von Zuckern, insbesondere von Hexosaminen und Hexonsäuren stellten H. Masamune und Z. Yosizawa[2] Untersuchungen an. Von verschiedenen Lösungsmitteln erwiesen sich Butanol-Pyridin-Wasser (5:3:2) nach Z. Yosizawa[3] sowie n-Butylacetat-Eisessig-Äthanol-Wasser (3:2:1:1) als am günstigsten. Als Kriterium der Kohlenhydrate dient der R_f-Wert, das ist die Laufstrecke des Zuckers bezogen auf Rhamnose. Konstante R_f-Werte werden bei einer Arbeitstemperatur von 22—27° C erhalten. Die untersuchten Lösungen sind 2%ig in bezug auf jeden einzelnen Zucker, werden mit 0,1 n Schwefelsäure auf p_H 5,8 angesäuert (Salzsäure wird für Hexosamin benutzt) und in Mengen von 0,015 ml in einer Entfernung von 7—10 cm vom oberen Rand auf das Papier gebracht (Abmessungen des Papiers 60 × 5 cm für das Gefäß I und 60 × 5—10 cm für Gefäß II). Als Farbreagens dient Anilinphthalat nach Partridge und für Hexosamin 0,2%ige Ninhydrinlösung in Butanol. — Hexosaminhydrochloride sind schwierig zu trennen. Kristallisiertes Glucosaminsulfat gibt mit den meisten der Lösungsmittelgemische einen Fleck mit höherem R_f-Wert, während ein aus Chitin gewonnenes Sulfat außerdem einen Fleck mit niedrigerem R_f-Wert liefert. — Bei neutralisierten oder schwach alkalisch gemachten Lösungen werden die Flecken mit niedrigerem R_f-Wert schwächer und die dem freien Glucosamin entsprechenden von höherem R_f-Wert stärker. Chondrosaminsulfat, das aus Chondroitinsulfat gewonnen wird, gibt immer nur einen Fleck mit niedrigem R_f-Wert. Das nach Hydrolyse des Chondroitinsulfats, Entfernung des größten Teils der Schwefelsäure durch Bariumhydroxyd sowie alsdann nach Konzentration des Filtrates gewonnene Produkt erzeugt 2 Flecken, deren Größe und Intensität je nach dem verwendeten

[1] Analyst (London) **79**, 201—208 (1954). Univ. Edgbaston, Birmingham (England).
[2] Tohoku J. exp. Med. **59**, 1—9 (1953). Tohoku-Univ., Sendai (Japan).
[3] Tohoku J. exp. Med. **53**, 125 (1950).

Lösungsmittel wechseln. — Zur Trennung der gewöhnlichen Zucker, des Hexosamins und der Hexuronsäuren sind Butanol-Pyridin-Wasser, sowie auch Butylacetat-Eisessig-Äthanol-Wasser in der absteigenden Technik gut geeignet. Butanol-Pyridin-Wasser verursacht teilweise Spaltung des Hexosamins, trennt aber die Sulfate. Eine Tabelle mit den R_f-Werten der Kohlenhydrate bei Verwendung von 7 verschiedenen Lösungsmitteln und ein entsprechendes Diagramm sowie einige schematische Bilder von Chromatogrammen können der Originalarbeit entnommen werden. Th. Breyhan.

Eine spektrophotometrische Bestimmungsmethode von Carbonylgruppen in gesättigten Ketocholansäuren wurde von E. L. Pratt[1] erstmals ausgearbeitet. Versuche ergaben, daß, wenn eine solche Säure eine oder mehrere Carbonylgruppen besitzt, die Carbonyl-Resonanz UV-spektroskopisch nachgewiesen werden kann. Die Absorption der Strahlung, ausgedrückt als molekularer Extinktionskoeffizient ε, ist proportional der Anzahl der Carbonylgruppen in einem Molekül, wenn diese voneinander durch 3 oder mehr Methylengruppen getrennt sind. In 0,1 n Natronlauge als Lösungsmittel beträgt ε von *Dehydrocholsäure (3,7,12-Triketocholansäure)* beim Maximum (285 mμ) 106,8. Jede Carbonylgruppe ist durch mehr als zwei CH_2- oder CH-Gruppen getrennt und jede trägt 35,6 Einheiten zum erhaltenen Gesamtextinktionswert bei. ε von *3-Succinoxy-7,12-diketocholansäure* bei 285 mμ hat den Wert 73,5, von *7-Keto-3,12-dioxycholansäure* bei 285 mμ den Wert 34,1 und von *3,6-Diketocholansäure* mit einem Maximum bei 268 mμ den Wert 217. — Die Umwandlung von Cholsäure zu Desoxycholsäure erfordert eine selektive Oxydation der 7-Oxygruppe zur Carbonylgruppe. Zu deren Bestimmung löst man einen aliquoten Teil des Oxydationsgemisches (etwa 100 mg 7-Keto-3,12-dioxycholansäure entsprechend) in genau 25 ml 0,1 n Natronlauge und ermittelt — gegen die Lauge — die Absorption bei 285, 275 und 300 mμ. Daraus errechnet man die korrigierte Absorption Ac zu $4{,}29 \times A_{285} - 2{,}574 \times A_{275} - 1{,}716 \times A_{300}$, woraus sich dann die Menge der Ketosäure in mg ml zu 284,1 · Ac/V ergibt. (A = Absorption bei der jeweiligen Wellenlänge; V = Volumen der Probe in ml.) H. Freytag.

Verbindungen, die in γ- oder β-Stellung 2 Carbonylgruppen enthalten, bestimmen J. Modiano und J.-Ch. Pariaud[2] bromometrisch. Bei der Reaktion von α-Diketonen mit Brom bei Gegenwart von $HgSO_4$ findet keine Bromierung sondern eine Oxydation statt. Das System $HgSO_4$ Br wirkt als starkes Oxydationsmittel; das Oxydationspotential Br/Br⁻ ändert sich bei Zugabe von $HgSO_4$. Zum Beispiel wird *Campherchinon* oxydiert zum Anhydrid der Camphersäure:



In analoger Weise reagieren: Diacetyl, Dipropionyl, Dibutyryl, Oxalsäure und Brenztraubensäure. Cyclohexandion-(1,2) dagegen wird bromiert. Die β-Diketone werden unter gleichen Bedingungen nicht oxydiert sondern bromiert. $HgSO_4$ ist ohne Einfluß. Der Endpunkt wird an der auftretenden Gelbfärbung oder potentiometrisch bestimmt. Untersucht wurden: Acetylaceton, Dimethyl-1,1-cyclohexandion-3,5 (Dimedon), Acetessigester, der Äthylester der Benzoylessigsäure und der Äthylester der Phenylformylessigsäure. Es ist ferner möglich, α- und β-Diketone nebeneinander zu bestimmen, da die α-Diketone bei Abwesenheit von $HgSO_4$ nicht mit Brom reagieren. Bei Gegenwart von Quecksilbersulfat und Kaliumjodid

[1] Analyt. Chemistry **25**, 175—177 (1953). Winthrop-Stearns Inc., Rensselaer. N.Y.
[2] Bull. Soc. chim. France **1954**, 189—191. Fac. Catholique Sci. Lyon (Frankreich).

dagegen werden nur die α-Diketone erfaßt, da das von den β-Diketonen gebundene Brom wieder quantitativ durch Jod ersetzt wird. Die Reaktionszeit schwankt zwischen 10 min und 2 Std, sie ist um so kürzer, je mehr C-Atome im Molekül sind. *Ausführung.* Zu 10—20 ml einer 0,1 n Bromid-Bromatlösung (etwa 15% Überschuß) gibt man 5 ml 6 n Schwefelsäure, dann 10—20 ml einer 0,2 n $HgSO_4$-Lösung und anschließend die Analysensubstanz, gelöst in Alkohol oder Essigsäure. Man schüttelt einige Minuten, versetzt nach beendeter Reaktion mit 10 ml 3 n NaCl-Lösung und 20 ml einer 20%igen Kaliumjodidlösung und titriert das ausgeschiedene Jod mit 0,1 oder 0,05 n Thiosulfatlösung. G. Denk.

IV. Spezielle analytische Methoden.

2. Auf Handel, Industrie und Landwirtschaft bezügliche.

Eisen, Stahl. D. F. Kuemmel und H. L. Karl beschreiben eine *Methode zur Bestimmung von Alkali- und Erdalkalimetallen (Lithium, Natrium, Calcium, Magnesium* in Mengen von etwa 0,001% bis 0,1%) *in Gußeisen.* Dazu werden 4 g Eisenspäne in verdünnter Salzsäure gelöst und unlösliche Bestandteile wie Kohle und Kieselsäure abfiltriert; die Hauptmenge des Eisens wird durch Ausäthern entfernt. Der wäßrige Extrakt eignet sich nach Beseitigung des darin noch vorhandenen Äthers für die flammenphotometrische Bestimmung. Die Verff. messen mit dem Beckman-Spektralphotometer, Modell DU, mit Flammenphotometerzusatz, Modell 9200, die Intensität der Linien 675 mμ (Li), 591 mμ (Na), 424 mμ (Ca) und 285 mμ (Mg). Die Aufstellung der Eichkurven sowie die Durchführung der Messungen erfolgt nach den allgemein üblichen Vorschriften. Eine sorgfältige Untersuchung der gegenseitigen Störungseinflüsse ergibt, daß bei den vorliegenden Konzentrationsverhältnissen keine merkliche gegenseitige Beeinflussung der Alkali- und Erdalkali-Lichtemission auftritt. Das nach dem Ausäthern in der wäßrigen Phase noch vorhandene Eisen sowie Nickel und Kupfer stören die Bestimmung nicht. Phosphor, der durch die Säurebehandlung nicht vollständig entfernt wird, läßt den Ca- und in geringerem Ausmaße den Mg-Gehalt zu niedrig erscheinen. Durch Verwendung von Eichlösungen mit Phosphorzusätzen ist diese Fehlerquelle vermeidbar. Eine Gegenüberstellung zahlreicher flammenphotometrischer und gravimetrischer Analysenergebnisse zeigt, daß die Genauigkeit der beschriebenen Methode der der üblichen gravimetrischen Methoden vergleichbar ist.

Ein Verfahren zur spektralanalytischen Bestimmung von Cer, Lanthan, Neodym und Praseodym in rostfreiem Stahl wird von E. W. Spitz, J. R. Simmler, B. D. Field, K. H. Roberts und S. M. Tuthill[2] mitgeteilt. *Ausführung.* 1 g des gespanten Materials wird mit verdünnter Salzsäure, Salpeter- und Perchlorsäure gelöst, das Eisen und ein Teil des Chroms werden durch Amalgamelektrolyse abgeschieden und die Seltenen Erden nach Zusatz von 1,2 mg Eisen (als Chlorid) als Spu enfänger mit Ammoniak gefällt. Nach 3 Umfällungen wird der Oxydhydratniederschlag in möglichst wenig Salzsäure gelöst und die Seltenen Erden werden mit einem Zusatz von 50 mg Kochsalz (spektroskopischer Puffer) und 0,64 mg Uran als Uranylnitrat (innerer Standard) lösungsspektralanalytisch bestimmt. Die Verff. verwenden dafür einen „Baird" - 3 m-Gitterspektrographen mit Kohleelektroden, Gleichstrombogen 250 V (Kurzschlußstromstärke 13 Amp.)

[1] Analyt. Chemistry **26**, 386—391 (1954). Allis-Chalmers Manufact. Co. und Marquette Univ. Milwaukee, Wisc. (USA).

[2] Analyt. Chemistry **26**, 304—307 (1954). Mallinckrodt Chemical Works, St. Louis, Mo. (USA).

und messen im Spektrum 2. Ordnung die Linien: 4012,3 Å (Nd II); 4223,0 Å (Pr II); 4238,4 Å (La II) und 4486,9 Å (Ce II) gegen die Uranlinie 4244,4 Å (U II). Nach dieser Vorschrift können noch 50 μg (bei 5 g Einwaage also 0,001%) Seltene Erden mit einer Genauigkeit von etwa ± 10% bestimmt werden. Die Analyse synthetischer Lösungen ergibt, daß durch die Elektrolyse keine Verluste an Seltenen Erden auftreten und Begleitelemente wie Aluminium, Chrom, Silicium, Calcium, Titan und Vanadin auch in 20-fachem Überschuß die spektralanalytische Bestimmung nicht stören. H. Zettler.

W. G. Kirchgesser und N. A. Finkelstein[1] studierten *die Bestimmung geringer Borgehalte in Stahl* mit Hilfe eines Bausch- und Lomb-Echellespektrographen. Bei diesen, auf eine Entwicklung von G. R. Harrison zurückgehenden Geräten ist hinter einen Prismenspektrographen mit 50 μ hohem und 400 μ breitem Spalt einen Gitterspektrograph mit 400 μ hohem und 50 μ breitem Spalt geschaltet, dessen Dispersion senkrecht zu der des ersteren verläuft. Das Gitter, welches in sehr hohen Ordnungen benutzt wird (280.–1121. Ordnung), ergibt die extreme Linieardispersion von 0,34—1,1 AE/mm, während das Prismengerät die sonst unvermeidliche Überlagerung von Linien verschiedener Ordnung durch Vorzerlegung ausschließt. Die in der Arbeit enthaltenen Aufnahmen zeigen in eindrucksvoller Weise die hohe Dispersion und das hohe Auflösungsvermögen des Echellespektrographen. Dank dieser Eigenschaften konnten die Verff. auch das Linienpaar Fe 2497,820 — B 2497,733 AE bequem trennen (Abstand der Linien auf der Platte = 0,28 mm) und Borgehalte bis herab zu 0,0006% bestimmen. – *Arbeitsbedingungen.* Linienpaar: B 2497,733 AE — Fe 2496,991 AE; Anregung: Gleichstrombogen, 250 Volt, 8 — 0,5 A; Lichtbogen 56 cm vor dem Spalt; Elektrodenabstand: 8 mm; Echellespalt: 50 μ; Littrow-Spalt: 400 μ (= 400 × 50 μ); Spektralbereich des Littrow-Geräts: 2200—2750 AE; Kondensor: Abbildung des Lichtbogens mittels einer Quarzlinse (131,8 mm = f) auf dem Spalt. — Die Stahlproben, 6,4 mm lange Stäbchen von 5,6 mm ⌀, wurden in eine entsprechend ausgebohrte und hinterdrehte Kohle eingesetzt und unter Verwendung eines sphärisch zugespitzten Graphitstabes von 6,4 mm ⌀ angeregt. — Die mitgeteilten Belegversuche zeigen, daß Borgehalte von 0,019 bis herab zu 0,0006% mit einem mittleren Fehler von etwa 7% bestimmbar sind. – Es besteht kein Zweifel, daß die Echellespektrographen mächtige Hilfsmittel für die Untersuchung linienreicher Spektren darstellen; allerdings dürfte die Auswertung der zeilenartig verlaufenden Echellespektren mehr Aufmerksamkeit und Übung erfordern als die eines normalen Spektrogramms.)

N. E. Gordon jr., R. M. Jacobs und M. C. Rickel[2] überführen *Proben von 18—8-Stählen zur Bestimmung ihres Gehaltes an Ta* (0,003–1%), Co (0,02 bis 0,2%), *Nb und Mn* (0,2—2%), Mo (0,09—0,7%) *und Ti* (0,1–1%) in Sulfat bzw. Oxyd und untersuchen diese im Wechselstrombogen. *Arbeitsvorschrift.* 200 mg Bohrspäne werden in 15 ml Königswasser gelöst und nach Zugabe von 1 ml Schwefelsäure zur Trockne gedampft. Der Trockenrückstand wird solange auf 350° C erhitzt, bis er keine sauren Dämpfe mehr abgibt. Das zurückbleibende Salz wird gepulvert und schließlich innig mit dem gleichen Volumen Graphitpulver gemischt. Zur Aufnahme dienen jeweils 50 mg dieses Gemisches. – Liegt der Tantalgehalt des Stahles unter 0,05% Ta, so löst man 2,5 g Stahl und scheidet Ta und Nb aus dieser

[1] Analyt. Chemistry **25**, 1034—1038 (1953). Bausch & Lomb Optical Co., Rochester, N.Y. (USA).

[2] Analyt. Chemistry **25**, 1031—1034 (1953). Westinghouse Electric Corp., Pittsburgh, Pa. (USA).

Lösung durch doppelte Fällung als Oxydgemisch ab. Letzteres wird gelöst und mit dem gleichen Gewicht Graphitpulver gemischt. Von dieser Mischung verwendet man 20 mg zur Aufnahme. — Das Salz bzw. Oxydgemisch wird in Kraterelektroden mit zentralem Zapfen eingefüllt und unter Verwendung einer unter 20 ∢ zugespitzten Kohlegegenelektrode von etwa 3,2 mm ⌀ bei 4 mm Elektrodenabstand im Hochspannungsbogen verdampft (2400 Volt; 4,8 Amp.). Aufnahme: 21 Fuß (6,41 m)-Jarrel-Ash-Spektrograph mit einem auf $^3/_8$ × $5^1/_4$ Zoll (9,5 × 133,4 mm) abgedeckten Gitter (15000 Linien je Zoll) (etwa 600 / mm), Spalt: 40 μ × 2 mm, Bereich: 2700—3300 AE (2. Ordnung), 2,5 AE/mm. Belichtung: 50 sec, Vorfunkzeit: 0 sec. — Aufnahmematerial: Kodak SA 1 für Salz-, SA 2 für Oxydgemische. — Ausmessung: Jarrel-Ash-Densitometer mit 10 μ × 1,5 mm-Spalt. Auswertung mit Hilfe v n Schwärzungskurve. — Linienpaare: Fe 2886,32 — Ta 2714,67, Fe 2886,32 — Mn 2914,60, Fe 2886,32 — Co 3044,00, Fe 2964,63 — Ti 3072,11, Fe 2964,63 — Nb 2950,88, Fe 2964,63 — Mo 2816,15 AE, für Oxyde: Nb 2715,5 — Ta 2714,67 AE. — Als mittlerer Fehler des verhältnismäßig einfachen Verfahrens werden ± 10% angegeben. W. Schuhknecht.

In einer Untersuchung zur spektrochemischen Mikroanalyse von Stahl und Eisen kombiniert F. A. Pohl[1] die chemische Abtrennung des Eisens aus Stahlspänen mit der nachfolgenden spektralanalytischen Bestimmung der übrigen Bestandteile. Hierbei wurden die Elemente Mn, Cu, Co, Ni, Cr, V, Mo, W, Al, Ti, Sn, Zn, Zr und einige andere, die in der Stahlanalyse von geringerer Bedeutung sind, erfaßt. Bei der Untersuchung werden 1—10 mg Stahlspäne gelöst und das Eisen mit Äthyläther aus 6,5 n Salzsäure extrahiert. Nach Reduktion mit Natriumdithionit werden die gemeinsam mit Fe in die Ätherphase übergehenden Elemente in Form ihrer Rhodankomplexe mit Äther extrahiert. Die Elemente Au, As, Sb, Ge und Tl können auf diesem Wege nicht vom Fe getrennt werden. Die Rhodanextrakte werden dann zusammen mit der ursprünglichen salzsauren Phase im Feussner-Funken spektrographisch analysiert. Die ausführliche Arbeitsvorschrift kann dem Original entnommen werden. J. van Calker.

Eine Studie über die colorimetrische Aluminiumbestimmung in Stählen mit dem neuen Reagens „Stilbazo" (Diammoniumsalz der Stilben-4,4′-[(azo)-3,4-dioxybenzol]-2,2′-disulfonsäure)[2] stellt M. Jean[3] an. Als Ergebnis der ausführlichen Untersuchung werden folgende *Arbeitsvorschriften* gegeben: *Stahl mit* ≦ 0,1% *Al.* Man löst 1 g Stahl in 10 ml Schwefelsäure (1 : 1) durch Erwärmen, oxydiert mit einigen Tropfen Ammoniumperoxydisulfatlösung (10 g Liter) und zerstört den Überschuß durch Kochen. Nach dem Verdünnen auf etwa 70 ml wird an einer Hg-Kathode 3 Std bei 6 A elektrolysiert. Nach Beendigung der Elektrolyse wird der Elektrolyt filtriert und auf etwa 25 ml eingeengt. Man neutralisiert mit Natronlauge gegen Lackmus und säuert sofort mit 5 ml 2 n Schwefelsäure wieder an. Anschließend extrahiert man Vanadin und Titan nach Zusatz von 5 ml 5%iger Kupferronlösung durch dreimaliges Schütteln mit je 10 ml Chloroform. Die filtrierten wäßrigen Extrakte füllt man auf 100 ml auf. Zu einer Abnahme von 5—10 ml in einem 100 ml-Meßkolben fügt man jeweils unter Umschütteln 10 ml 5%ige Ascorbinsäure- und 25 ml Pufferlösung zu (150 g Ammoniumacetat + 12 ml konz. Essigsäure/Liter) und läßt 10 min stehen. Jetzt gibt man 10 ml 0,5%ige wäßrige Stilbazolösung zu und füllt zur Marke auf. Der p_H-Endwert der Lösung soll etwa bei 5,5—5,6 liegen.

[1] Mikrochim. Acta (Wien) **1954**, 258—262. Techn. Hochschule, Graz.

[2] Kuznecov, V. I., G. G. Karanovič und D. A. Drabkina: Zavodskaja Laborat. [Betriebslab.] **1950**, 787; vgl. diese Z. **139**, 128 (1953).

[3] Anal. chim. Acta (Amsterdam) **10**, 526—553 (1954).

Die rote Lösung wird gegen einen Blindansatz bei 515 mμ in 20—30 mm-Küvetten gemessen. Die Eichkurve stellt man mit Aluminiumtestlösung (von 0 –5) μg Al) unter den gleichen Bedingungen auf. In Abwesenheit von Vanadin und Titan kann die Kupferronextraktion unterbleiben. Bei *Nitrierstählen* (Al $\leq 2\%$) werden 0,5 g Einwaage genau so behandelt. Nach der Elektrolyse neutralisiert man mit Ammoniak, setzt 15 ml 4 n Schwefelsäure und 20 ml 5%ige Phenylarsinsäure zu, kocht kurz auf, füllt im 100 ml-Meßkolben auf und filtriert nach 12 Std partiell. 5 ml Abnahme füllt man im 50 ml-Meßkolben auf und führt mit einer weiteren Abnahme von 5 ml dieser verdünnten Lösung die oben beschriebene Bestimmung durch. Die Eichkurve wird wiederum mit 0—50 μg Al unter den gleichen Bedingungen aufgestellt. Bei *Magnetstählen* (Al $\leq 15\%$) werden 0,0335 g mit Schwefelsäure (1 : 1) gelöst und im 500 ml-Meßkolben aufgefüllt. 5 ml Abnahme davon, im 100 ml-Meßkolben aufgefüllt, und hiervon 5 ml abpipettiert werden nach Neutralisation wie beschrieben weiter verarbeitet. — Versuche, das Vanadin mit Dicyandiamidin, Diantipyrylphenylmethan und α-Benzoinoxim bzw. als Siliciumvanadowolframsäure abzutrennen, waren erfolglos. Beleganalysen von Stählen mit Al-Gehalten unter 0,1% zeigten sehr gute Übereinstimmungen mit spektralanalytisch ermittelten Werten. H. Pohl.

Über die photometrische Bestimmung von Titan mit Chromotropsäure in Roheisen und Stählen ohne Abtrennung des Eisens und der Legierungsmetalle berichten W. Koch und H. Ploum[1] in Fortführung und Erweiterung der Versuche von P. Klinger und W. Koch[2]. Der von diesen Autoren zur Eisen(III)-reduktion benutzte Zinkstaub wird zweckmäßig durch Ascorbinsäure ersetzt, die im Überschuß angewandt auch einen zuverlässigen Schutz gegen die Rückoxydation des Eisens durch den Luftsauerstoff bildet. Das Absorptionsmaximum des Titan-Chromotropsäurekomplexes liegt bei 460—480 mμ (Filter S 47). Man arbeitet am besten bei p_H 2 -3, da in diesem Bereich die größte Farbstärke erzielt wird. Sulfat-Ionen, die durch den Aufschluß unlöslicher Titancarbide mit Pyrosulfat in die Lösung kommen, stören die Messung nicht. Die durch die Legierungsbestandteile Ni, Mo, Nb, Cr, Co und Ta verursachten Abweichungen liegen innerhalb der Fehlergrenzen der photometrischen Bestimmungen. Der etwas größere störende Einfluß von V und W kann durch Aufstellung besonderer Eichkurven ausgeschaltet werden. Ein Vergleich der beschriebenen Verfahrens mit anderen Methoden ergab gut übereinstimmende Werte. — *Arbeitsvorschrift.* Man löst 0,5 g Probe in 10 ml Salzsäure (D 1,19), verdünnt auf 30 ml und filtriert in einen 100 ml-Meßkolben. Nach mehrmaligem Auswaschen mit heißem Wasser trocknet und verascht man das Filter, das noch ungelöste Titancarbide enthalten kann. Diese werden mit etwa 0,5 g Kaliumpyrosulfat aufgeschlossen, die Schmelze wird nach Erkalten in wenig Wasser unter Zusatz von 3 Tropfen Schwefelsäure (D 1,84) gelöst und die Lösung ebenfalls in den Meßkolben filtriert. Nach Auffüllen und Mischen werden 10 ml der Lösung entnommen und der Reihe nach mit 10 ml 1%iger Ascorbinsäurelösung (täglich frisch zubereiten), 35 ml Wasser, 2 ml 6%iger Chromotropsäurelösung (nicht älter als 2 Tage) und 10 ml Pufferlösung (100 g Natriumacetat, 800 ml Essigsäure [D 1,06] im Liter) versetzt. Der p_H-Wert wird sofort, spätestens aber innerhalb 60 min, unter Zuhilfenahme eines p_H-Meßgerätes mit Glaselektrode mit Salzsäure oder Natronlauge auf 2,5 eingestellt. Darauf gibt man die Lösung in einen 100 ml-Meßkolben, füllt auf und photometriert mit Filter S 47 (Elko II von Zeiß) innerhalb von 2 Std (gerechnet ab 10 min nach dem Auffüllen). Als Vergleichslösung dient Wasser. Die zur Auswertung notwendige Eichkurve ermittelt man auf die gleiche Weise mit

[1] Arch. Eisenhüttenwes. **24**, 393–396 (1953). Max-Planck-Inst. Eisenforsch., Düsseld.
[2] Techn. Mitt. Krupp, A: Forsch.-Ber. **2**, 179 (1939); vgl. diese Z. **126**, 124 (1943).

Eisen(III)-chloridlösungen, die 45 mg Fe/100 ml enthalten und denen steigende Mengen Titan(IV)-chlorid (bis 0,45 mg Ti/100 ml) zugesetzt werden. F. Schärtl.

Zur Bestimmung von Mikro-Phosphormengen in Eisen beschreibt O. R. Gates[1] ein auf der Farbmessung als Molybdänblau beruhendes Verfahren, mit welchem sich noch 0,0001% Phosphor in 4 g Einwaage bestimmen lassen. Die Genauigkeit beträgt bei Mengen von 2—6 μg Phosphor ± 30%, bei Mengen von 6—50 μg ± 10%. — *Ausführung.* Man löst 4 g der Probe mit 50 ml Salpetersäure 1:1, gibt einige Tropfen Flußsäure zu und dampft mit 28 ml Perchlorsäure bis fast zur Trockne ein. Nach dem Abkühlen verdünnt man mit 75 ml Wasser, kocht 1 min, kühlt ab und bringt in eine Elektrolysezelle, die 35 ml Quecksilber als Kathode enthält. Als Anode wird eine Platinnetzelektrode in die Lösung gebracht. Man leitet einen Luftstrom von 1 Blase/sec durch das Quecksilber, elektrolysiert 1 Std bei 15 A und 12—14 V und entfernt am Schluß unter Strom das Quecksilber aus der Zelle. Die Lösung dampft man bis zur Ausscheidung von Perchloraten ein, verdünnt mit 75 ml Wasser, kocht 1 min, kühlt ab, wiederholt die Elektrolyse bei 4 A, bis sich durch Tüpfeln mit Rhodanid-Ion nur noch Spuren Eisen nachweisen lassen, dampft die Lösung bis auf 3 ml ein, kühlt, verdünnt mit 75 ml Wasser, kocht 1 min und leitet 10 min Schwefelwasserstoffgas ein. Man filtriert, wäscht 2mal mit gesättigtem H_2S-Wasser, dampft das Filtrat ein bis zum Auftreten von Perchlorsäurenebeln, fügt nach dem Abkühlen 5 ml Bromwasserstoffsäure (1:4) zu, dampft zur Entfernung des Arsens wieder bis fast zur Trockne, fügt nochmals 3 ml Perchlorsäure zu und erhitzt 2 min weiter. Nach dem Abkühlen gibt man 10 ml Wasser zu, kocht 1 min, kühlt wieder etwas ab und setzt nun 15 ml 10%ige Natriumsulfitlösung zu. Nachdem man 30 sec aufgekocht hat, fügt man 20 ml Ammoniummolybdat-Hydrazinsulfatlösung (siehe unten) zu, erhitzt bis fast zum Sieden, hält 30 min auf dem Dampfbad, kühlt ab und bringt das Volumen der Lösung auf 50 ml mit Ammoniummolybdat-Hydrazinsulfatreagens (1:4). Man colorimetriert aus apparativen Gründen bei 650 mμ, obwohl das Absorptionsmaximum bei 830 mμ liegt. — Zur *Herstellung der Ammoniumolybdat-Hydrazinsulfatlösung* gibt man zu 500 ml Wasser 300 ml konz. Schwefelsäure und nach dem Abkühlen 20 g $(NH_4)_6Mo_7O_{24} \cdot 4\,H_2O$ und füllt zum Liter auf. 25 ml der Lösung verdünnt man mit Wasser auf 80 ml, setzt 10 ml 0,15%ige Hydrazinsulfatlösung zu und füllt mit Wasser auf 100 ml auf. Diese Lösung ist instabil und muß immer frisch hergestellt werden. K. Brodersen.

Die Bestimmungsmethoden von Einschlüssen im Stahl unterzieht J. Massinon[2] einer sorgfältigen Überprüfung. Das *Lösungsverfahren mit Jod in alkalischer Lösung* ist verhältnismäßig einfach auszuführen. Die Stahlspäne, die am besten die Größe 8 × 1 × 0,5 mm haben sollen, werden mit einer Lösung von 70 g Jod in 600 ml Alkohol etwa 45 min lang bei 65° C unter sorgfältigem Ausschluß von Luftsauerstoff behandelt (Abbildung des Apparates im Original). Der unlösliche Rückstand wird dann abfiltriert und analysiert. Bestimmt werden SiO_2, Fe, Mn, Ti, Al, Cr. Man kann nach diesem Verfahren Stähle untersuchen, die bis zu 0,25% Si und 0,45% C oder 0,20% Si und 0,55% C enthalten. Über diesen Grenzen nehmen die Filtrationsschwierigkeiten rasch zu. Die Resultate für beruhigte Thomas- und Martinstähle sind sehr gut reproduzierbar, bei legierten Stählen, deren Auflösung lange dauert, sind die Ergebnisse unregelmäßig. Stähle mit 0,10% Ni und 0,45% Cu geben aber noch brauchbare Werte. — Das *Verfahren der anodischen Auflösung*[3]

[1] Analyt. Chemistry **26**, 730—732 (1954). Naval. Res. Lab., Washington, D.C.

[2] Rev. Métallurgie **50**, 264—274 (1953).

[3] Skapsky, A., A. Bielansky and M. Sobiesky: Rev. Métallurgie **18**, 229 (1946); vgl. auch diese Z. **135**, 134 (1952) (bei M. Lacombe und J. Varetto).

gibt sehr rasch und ohne große Schwierigkeiten gut reproduzierbare Resultate, die in Summe mit den Werten des Jodverfahrens gut übereinstimmen. Die Werte der einzelnen Oxyde (SiO_2, MnO, FeO) zeigen allerdings mitunter beträchtliche Abweichungen; bei den Al_2O_3-Werten sind die Differenzen am geringsten. — Bei beruhigten weichen Stählen stimmen die Gesamtsauerstoffwerte nach den beschriebenen Verfahren auch befriedigend mit den Ergebnissen der *Aluminiumdiffusionsmethode*[1] überein (die Werte der letzten Methode sind meist etwas niedriger). Bei harten und nicht beruhigten Stählen ist die Übereinstimmung schlecht. — Die *Al_2O_3-Werte*, die nach der üblichen Auflösungsmethode in Säure erhalten werden, sind stets niedriger als nach den obigen Verfahren. Das Al_2O_3 wird also durch die Lösungssäure angegriffen. — Die Arbeit von Massinon enthält auch ausführliche Angaben über die Vorbereitung der Proben zur Analyse. H. Zellner.

Zur volumetrischen Bestimmung von Kohlenstoff und Kohlendioxyd verwenden J. Kinnunen und B. Merikanto[2] *das Verfahren* von A. Lassieur[3], bei dem CO_2 in Barytwasser aufgefangen und der Überschuß des Bariumhydroxyds zurücktitriert wird; jedoch ersetzen sie die nasse Veraschung durch die einfachere trockene im Sauerstoffstrom. — *Apparatur.* Der Sauerstoff wird vor dem Eintritt in das Verbrennungsrohr zunächst durch eine Flasche mit Bunsenventil und anschließend durch Kalilauge geleitet. An das Verbrennungsrohr schließt ein Vorstoß mit Glaswolle und daran eine 500 ml-Saugflasche an, die durch einen Hahn gegen die übrige Apparatur abgesperrt werden kann. *Analysenvorschrift.* Zur Bestimmung des C-Gehaltes in Eisen werden 0,5 g der Probe und 1 g Zinnfolie in das Verbrennungsschiffchen gebracht. Die Saugflasche wird mit 5—10 ml Barytlauge, die mit einer Kaliumhydrogenphthalatlösung gegen Phenolphthalein neutralisiert ist, ausgespült. Dann werden 50 ml $Ba(OH)_2$-Lösung einpipettiert und die Flasche bei geschlossenem Hahn evakuiert. Durch das Verbrennungsrohr, welches auf etwa 1200° C erhitzt wird, leitet man $^1/_2$ min CO_2-freien Sauerstoff, verbindet dann mit der Saugflasche schiebt das Schiffchen hinein, leitet 4—5 min Sauerstoff (1—2 Blasen/sec) hindurch und öffnet erst jetzt den Hahn zur Saugflasche. Wenn keine Gasblasen mehr durch die Kalilauge gehen, nimmt man die Saugflasche ab und titriert das nicht verbrauchte $Ba(OH)_2$ mit Kaliumhydrogenphthalatlösung zurück. Enthält die Substanz Schwefel, so werden die Verbrennungsgase noch durch Chromsäure geleitet. — Die Barytlauge wird erhalten durch Auflösen von 13 g $Ba(OH)_2 \cdot 8H_2O$ zum Liter und Einstellen gegen eine Lösung von Kaliumhydrogenphthalat mit 17,017 g/Liter. G. Denk.

3. Auf Pharmazie bezügliche Methoden.

Die jodometrische Methode zur Phenolbestimmung nach A. Kossler und E. Penny[4] wird von O. Siewers[5] zur Gehaltsbestimmung phenolhaltiger galenischer Präparate empfohlen. Das Verfahren beruht darauf, daß eine etwa 0,05—0,3 g Phenole enthaltende wäßrige Lösung mit einer genau abgemessenen Menge 0,1 n Natronlauge alkalisiert, auf 60° C erwärmt und sogleich mit einem Überschuß an 0,1 n Jodlösung versetzt wird (10—15 ml mehr als 0,1 n NaOH). Nach dem Erkalten säuert man mit verd. Salzsäure an und titriert das ausgeschiedene Jod mit 0,1 n Natriumthiosulfatlösung zurück. Verf. stellte fest, daß die Methode bei genauer Einhaltung der

[1] Gotta, A.: Arch. Eisenhüttenwes. **17**, 53 (1943); vgl. diese Z. **129**, 428 (1949).
[2] Chemist-Analyst **43**, 17—18 (1954). Outokumpu Oy, Metalworks, Pori (Finnland).
[3] Chim. analytique **33**, 11, 352 (1951).
[4] Hoppe Seyler's Z. physiol. Chem. **17**, 117 (1892); vgl. diese Z. **32**, 123 (1893).
[5] Dtsch. Apotheker-Ztg. **93**, 624—625 (1953). Holsten-Apoth., Neumünster.

Temperatur vergleichbare Werte liefert. Für die Wertbestimmung phenolhaltiger ätherischer Öle (Oleum Caryophylli, Origani, Bay, Ylang Ylang) wird eine Jodzahl vorgeschlagen. H. Sperlich.

Zur gasvolumetrischen Bestimmung substituierter Triazine in verschiedenen Zubereitungen (Lösungen, Pasten) verwendet L. J. Lohr[1] eine Modifikation des von S. Siggia und L. J. Lohr[2] für die Bestimmung organischer Hydrazine beschriebene Verfahren. Das benutzte Gerät ist für Hydrazine bereits beschrieben worden[2]. Aus dem Gerät wird die Luft mit Kohlendioxyd verdrängt. Von der Probe wägt man etwa soviel ein, daß 15—25 ml Stickstoff zu erwarten sind. Nach Anschluß des die Einwaage enthaltenden Reaktionskolbens an das Gerät leitet man Kohlendioxyd bis zum Auftreten von Mikrobläschen im Nitrometer ein. Liegt eine Paste vor, so fügt man soviel Wasser zu, daß das Gasentbindungsrohr gerade unter den Flüssigkeitsspiegel taucht. Sobald Mikrobläschen im Nitrometer auftreten, zieht man in das Reaktionsgefäß 15 ml konz. Salzsäure ein, in denen 1—2 g Kupfer(I)-chlorid suspendiert sind, und spült mit 30 ml Wasser nach. Der Kolben wird langsam während der Zersetzung erhitzt. Gegen Ende der Bestimmung steigert man den CO_2-Strom, um den Stickstoff rascher in das Nitrometer zu transportieren. Eine Blindwertbestimmung ist erforderlich. Eine Analyse dauert 30 bis 45 min. Mono-, di-, aryl- oder alkylsubstituierte Triazine, aber ebenso Diazoniumverbindungen lassen sich so bestimmen. H. Freytag.

Zur bromometrischen Bestimmung verschiedener Thioacetale, Alkylsulfide und Thiolester geben B. Gauthier und J. Maillard[3] Einzelheiten im Anschluß an frühere Veröffentlichungen[4] bekannt. Es wird entweder direkt mit Bromid-Bromatlösung titriert oder nach Zugabe eines Überschusses der unverbrauchte Rest mittels Kaliumjodid und Natriumthiosulfatlösung zurückgemessen. Das Rücktitrationsverfahren muß zur Bestimmung von Thiolestern angewendet werden, da deren Reaktion mit Brom für die direkte Titration zu langsam ist. Für verschiedene Verbindungen werden die Herstellungsverfahren beschrieben. H. Freytag.

Zum Nachweis und zur Bestimmung von Propylthiouracil und ähnlichen Verbindungen verwendet F. Reinhardt[5] den rotvioletten Farbkomplex, der sich mit $RuCl_3$ bildet. Die Farbentwicklung und Farbintensität sind von Säuregrad, Temperatur, Zeit, Belichtung und Konzentration des $RuCl_3$-Reagenses abhängig. *Herstellung des Reagenses.* 100 mg käufliches Rutheniumchlorid (im Exsiccator getrocknet) löst man im 100 ml-Meßkolben in 1 ml dest. Wasser und füllt mit konz. Salzsäure (D 1,18) zur Marke auf. Vor Licht geschützt ist die Lösung monatelang haltbar. — *Bestimmung des Propylthiouracilgehaltes in handelsüblichen Tabletten.* 1 Tablette (etwa 20 mg Propylthiouracil enthaltend) löst man in 20 ml abs. Alkohol, zentrifugiert den unlöslichen Bodensatz ab, wäscht ihn mehrmals mit Alkohol, vereinigt die Waschflüssigkeit mit der abgetrennten alkoholischen Lösung und bringt alles auf genau 50 ml. Einen aliquoten Teil (2 ml) dampft man auf dem Wasserbad bei 60° C ein, setzt 0,6 ml konz. Salzsäure und 1,5 ml Reagenslösung zu und hält 90 min im kochenden Wasserbad, zusammen mit einem Standard, den

[1] Analyt. Chemistry **25**, 1117—1118 (1953). General Aniline & Film Corp., Easton, Pa. (USA).

[2] Analyt. Chemistry **21**, 1202 (1949); vgl. diese Z. **132**, 312 (1951).

[3] Ann. pharmac. franç. **11**, 509—522 (1953). Societé „Theraplix", Montrouge/Seine (Frankreich).

[4] Gauthier, B., et J. Maillard: C. R. Acad. Sci. (Paris) **236**, 1778, 1890 (1953); vgl. diese Z. **143**, 375, 376 (1954).

[5] Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. **293**, 268—272 (1953). Univ. Wien.

man aus 0,6 ml einer 0,1%igen Propylthiouracilstammlösung (in konz. Salzsäure) und 1,5 ml Reagenslösung hergestellt hat. Die colorimetrische Messung nimmt man dann bei 520 mμ im Vergleich mit dem Standard vor. Das LAMBERT-BEERsche Gesetz ist von 20—90 μg ml erfüllt. — Bei dem *papierchromatographischen Nachweis* kann noch 1 μg nachgewiesen werden, wenn der Streifen mit dem Reagens 5 min in feuchter Kammer bei 80° C gehalten wird. Außer von *6-Propyl- und 6-Methyl-2-thiouracil* wird die Reaktion von mehreren *Derivaten des Thioharnstoffs und der Thiobarbitursäure* gegeben. Mercaptoimidazole und Thiosemicarbazone geben eine blaugrüne bis smaragdgrüne Färbung. K. HINSBERG.

Für die maßanalytische Bestimmung von 4-Methyl und 4-Propylthiouracil kommen nach H. WOJAHN[1] in Betracht das alkalimetrische (Titration nach Zusatz von Silbernitrat), argentometrische (Fällung mit Silbersalz und Rücktitration des Überschusses mit Rhodanid)[2], jodometrische (Oxydation mit Hypojodit)[3], und das bromatometrische Verfahren. Sie sind alle für reine Lösungen brauchbar. Bei Tabletten entstehen aber Schwierigkeiten. Das bromatometrische Verfahren ist in einer von H. WOJAHN und E. WEMPE[4] angegebenen Modifikation (Versetzen mit Überschuß an 0,1 n $KBrO_3$-Lösung, nach 5 min Rücktitration mit Arsenitlösung) auch für Tabletten geeignet, die Milchzucker, Rohrzucker, Stärke, Stearinsäure oder Magnesiumstearat enthalten. Diese Stoffe stören nicht. Bei dem argentometrischen Verfahren ist Stärke schädlich. Man kann sie abtrennen, indem man Thiouracil mit ammoniakalischem Methylalkohol extrahiert. Nach KITAMURA reagieren HN–C(=S)-Verbindungen mit Wasserstoffperoxyd in alkalischer Lösung unter Bildung von Cyanat und Sulfat. Zur alkalimetrischen Bestimmung von Thiouracil durch Rücktitration der unverbrauchten Lauge eignet sich die Reaktion aber nicht. — Nach Ansicht des Verf. ist das modifizierte bromatometrische Verfahren den anderen Methoden weit überlegen. Es sollte in den Arzneibüchern an die Stelle der bisher verwendeten Verfahren gesetzt werden. K. HINSBERG.

Die Identifizierung und quantitative Trennung der Glucoside von Digitalis purpurea und lanata durch *„echte Verteilungschromatographie an Papier"* beschreiben R. TSCHESCHE, G. GRIMMER und F. SEEHOFER[5]. Die Methode beruht auf dem Prinzip, den Papierstreifen mit der organischen Phase eines Lösungsmittelgemisches zu besprühen oder zu tränken und die anschließende Entwicklung mit der wäßrigen Phase durchzuführen. Für wasserlösliche Glucoside verwendet man eine Mischung von n-Octanol-Gärungsamylalkohol (Pentanol)-Wasser-Formamid (8:2:8:2). Weniger lösliche Glucoside werden mit einem Gemisch obiger Komponenten im Verhältnis 6:2:1:4 entwickelt, während für die stark wasserlöslichen Glucoside Pentanol-Wasser, Malonsäurediäthylester-Wasser oder Oxalsäurediäthylester-Wasser (je im Verhältnis 1:1) brauchbar sind. In jedem Falle werden die Lösungsmittelgemische im Scheidetrichter durchgeschüttelt und nach dem Absitzen die leichte Phase zur Tränkung des Papiers, die schwere zur Entwicklung benützt. Die Glucosidgemische werden vor dem Auftragen in Methanol-Pentanol 1:1

[1] Pharmac. Acta Helvetiae **28**, 336–340 (1953). Tuberkulose-Forsch.-Inst., Borstel.

[2] WOJAHN, H.: Arch. Pharmaz. Ber. dtsch. pharmaz. Ges. **284**, 243 (1951); vgl. diese Z. **136**, 464 (1952).

[3] WOJAHN, H., und E. WEMPE: Arch. Pharmaz. Ber. dtsch. pharmaz. Ges. **285**, 280 (1952); vgl. diese Z. **140**, 228 (1953).

[4] Arch. Pharmaz. Ber. dtsch. pharmaz. Ges. **286**, 344 (1953); vgl. diese Z. **145**, 446 (1955).

[5] Chem. Ber. **86**, 1235—1241 (1953). Univ. Hamburg.

gelöst. Bei Verwendung von Sch. & Sch.-Papier Nr. 2043a können 120 μg, bei Papier von Macherey und Nagel Nr. 61 bis zu 300 μg Glucoside getrennt werden. Zur *quantitativen colorimetrischen Bestimmung* eignet sich am besten die Reaktion mit Xanthydrol (*X*): In 4 ml einer Lösung von 10 mg *X* in 100 ml Eisessig und 1 ml konz. Salzsäure läßt man das ausgeschnittene Filterstück 10 min bei 40° C stehen (ebenfalls Blindprobe mit einem gleichgroßen Papierstück), entfernt dann das Papier und stellt die Proben 3 min in siedendes Wasser. Nach Kühlung colorimetriert man die hierbei entstandene Farblösung bei 5260 Å. Die Färbung ist mehrere Stunden haltbar. Bei einer Fehlergrenze von ± 3% können z. B. nach dem beschriebenen Verfahren noch 1—2 μg Lanatosid A oder C in 100 μg Lanatosid bestimmt werden. K. Söllner.

Über den Nachweis und die Bestimmung des Lokalanaestheticums Hostacain (ω-n-Butylaminoessigsäure-2-methyl-6-chloranilid) und seines Spaltproduktes 2-Amino-3-chlortoluol in *Urin* berichten A. Häussler und L. Ther[1]. Zur Identifizierung des Hostacains eignet sich das Pikrat (Fp 157—158° C). Die Bestimmung erfolgt colorimetrisch nach dem Prinzip der Cronheim-Ware-Reaktion mit Bromkresolpurpur. 2-Amino-3-chlortoluol wird durch Diazotieren und Kuppeln mit Thiocol bestimmt. H. Sperlich.

Mikrobestimmungsverfahren für Ketosäuren und andere Carbonylverbindungen gründen Z. Dische, R. Weil und E. Landsberg[2] auf die Messung der Rosafärbung, welche diese Stoffe mit α-*Methylindol* in 2 n Salzsäure geben[3]. — *Arbeitsweise.* Zu 0,5 ml einer Lösung von Brenztraubensäure (1—10 μg ml) werden 0,5 ml Wasser und 0,5 ml der Reaktionslösung (gleiche Volumina 0,2%iger Eisen(III)-chloridlösung + 3%iger Cysteinhydrochloridlösung) und 3 ml 3 n Salzsäure zugesetzt. Die Gläser werden in Eiswasser getaucht. Man fügt 0,5 ml frisch bereitete 0,1%ige α-Methylindollösung zu und bewahrt 24 Std im Kühlschrank bei 0° C auf. Nach einigen Minuten Stehen bei Zimmertemperatur erfolgt Messung im Spektrophotometer gegen Blindlösung. — α-*Ketoglutarsäure*, *Oxalessigsäure* und *Oxalobernsteinsäure* erzeugen eine ähnliche oder die gleiche Färbung wie Benztraubensäure, *Mesoxalsäure* gibt Purpurfärbung. 2-Ketogluconsäure, Dehydroascorbinsäure, Bernstein-, Fumar-, Äpfel-, Citronen-, Milch-, Isocitronen-, Aconitsäure, geradkettige Fettsäuren, Aminosäuren, Zucker, Hexuronsäuren, Glucosen geben keine Färbung. Die rosa Reaktionsprodukte der α-Ketosäuren zeigen bei 494 mμ ein Maximum, bei 390 mμ ein Minimum und im UV-Bereich starke Absorption. — *Quantitative Bestimmung von Brenztraubensäure und α-Ketoglutarsäure.* Bei der Bestimmung in reinen Lösungen ist die relative Lichtdurchlässigkeit der gefärbten Reaktionsprodukte der beiden Säuren der Konzentration proportional. Im allgemeinen empfiehlt sich als Maß der Konzentration die Differenz der relativen Lichtdurchlässigkeiten bei 494 und 440 mμ zu nehmen. — *Bestimmung in Gewebsextrakten.* Hierbei werden mit Vorteil Trichloressigsäureextrakte verwendet. Die durch die Trichloressigsäure verursachten colorimetrischen Fehler werden durch Verwendung entsprechender Standardlösungen ausgeschaltet, die wie folgt hergestellt werden. Zu zwei 0,5 ml-Anteilen von α-Ketosäurelösungen (1—2 μg/ml) werden je 0,5 ml der unbekannten Lösung zugesetzt. Zu 2 anderen Anteilen der unbekannten Lösung werden je 0,5 ml Wasser zugefügt. D_{494}—D_{440} der letzten beiden Proben wird von D_{494}—D_{440} der ersten beiden subtrahiert. Diese Differenz

[1] Arzneimittel-Forsch. **3**, 609—611 (1953). Farbwerke Höchst AG., Frankfurt-Höchst a.M.

[2] J. biol. Chemistry **208**, 23—28 (1954). Columbia Univ., New York.

[3] Biochem. Z. **271**, 421 (1934).

entspricht dem Standardwert. Wegen der Zunahme der Farbintensität bei einigem Stehen muß gleichzeitig ein entsprechender Standard gemessen werden. — *Bestimmung von Glykolaldehyd, Triose und Ketoaldehyden in Gegenwart von α-Ketosäuren.* Zur Ausschaltung des störenden Einflusses solcher Substanzen dient die Wirkung von Alkali. Wird statt 0,5 ml Wasser die gleiche Menge n Kalilauge der unbekannten Lösung zugesetzt, 20 min vor Zusatz der α-Methylindollösung stehen gelassen, so entwickelt sich eine gelbe Farbe; gleichzeitig wird ein neues Maximum bei 410 mμ beobachtet, besonders wenn die Lösung 24 Std bei 0° C und dann 2 Std bei Zimmertemperatur gestanden hat. Die gelbe Farbe geht allmählich in eine rötliche über, die nach Erreichung eines Maximums abnimmt. Das Absorptionsmaximum wird zum roten Teil des Spektrums verschoben und erreicht bei 560 mμ ein Maximum. Die maximale Farbintensität wird mit Glykolaldehyd schneller als mit den anderen Substanzen erreicht und ist noch bei einer Konzentration von 5 μg ml merklich stark. Durch Verwendung von Überchlorsäure statt Trichloressigsäure zur Enteiweißung ist es möglich, die Empfindlichkeit des Nachweises von Glykolaldehyd um das 5fache zu steigern, wenn statt 0,5 ml Filtrat 2,5 ml genommen werden. Dieser Menge werden 0,5 ml 3 n Kalilauge oder Wasser, ferner 0,5 ml einer Mischung (0,25%ige $FeCl_3 \cdot 6\ H_2O$-Lösung + 3,5%ige Cysteinhydrochloridlösung) und 1 ml 9 n Salzsäure zugesetzt. — Die Anwendung der beschriebenen Methode unterliegt gewissen Beschränkungen. Da eine Anzahl von α-Ketosäuren als Zwischenprodukte des Stoffwechsels der Zelle erscheinen und sich ihre Extinktionskoeffizienten voneinander unterscheiden, ist die Bestimmung einer interessierenden Ketosäure nur durch Kombination dieser Methode mit einer anderen möglich. Bei Anwesenheit von z. B. aliphatischen Aldehyden ist es ratsam, die α-Methylindolreaktion mit der Dinitrophenylhydrazinmethode von H. C. Liebstein und W. W. Umbreit[1] zu kombinieren. Th. Breyhan.

4. Auf Physiologie und Pathologie bezügliche Methoden.

Bei der percuprimetrischen Titration der Eiweißkörper findet G. Beck[2] in Ergänzung mehrerer früherer Arbeiten[3], daß sich bei der Ausführung der Titration mit Kaliumkupfer(III)-tellurat die Oxydation sehr schön in einem Photometer mit violettem Filter verfolgen läßt. Unmittelbar nach Einspritzen von 0,2 ml der dunkelbraunen 0,00667 n Kupfer(III)-lösung zeigt das Galvanometer einen maximalen Ausschlag, der innerhalb einer gewissen Zeit auf den Ausgangspunkt zurückgeht. Wird diese Zeit in Abhängigkeit von der zugesetzten Menge aufgetragen, so ergeben sich für verschiedene reine Eiweißlösungen typische glockenförmige Kurven. Eine genauere Untersuchung des Vorganges zeigt, daß zuerst Cysteinylgruppen oxydiert werden, dann Glutaminsäurereste und anschließend die übrigen Peptidbindungen wie namentlich Glycyl-, Alanyl- und Leucylgruppen. Wenn die Breite der Kurve in Höhe der 3-Minutenordinate gemessen wird, so zeigt sich, daß dieser Wert in gewisser Beziehung zu dem Glutaminsäuregehalt steht, ihm jedoch nicht streng proportional ist. In manchen Fällen,wie z. B. bei Keratin und Spongin, ist eine Messung nicht möglich, weil diese Eiweißkörper sich nur bei alkalischer Reaktion unter Erwärmen lösen und dabei zersetzt werden. Derartige Kurven werden in großer Zahl gebracht und außerdem wird der sogenannte Biuretpunkt (Verschwinden der violetten Biuretfarbe) und der Trübungspunkt (Auftreten von Trübungen unter

[1] J. biol. Chemistry **170**, 329 (1947).

[2] Anal. chim. Acta (Amsterdam) **9**, 241—248 (1953). Univ. Bern.

[3] Vgl. diese Z. **142**, 67 (1954).

Zerstörung des Kupferkomplexes) für eine ganze Reihe von Eiweißkörpern beschrieben[1]. Der Biuretpunkt soll einen Anhalt für die Zahl der Peptidbindungen auf eine Gewichtseinheit geben. So verbraucht z. B. das Seidenfibroin, welches im wesentlichen aus einem Tetrapeptid Glycylalanyl-glycyltyrosin besteht, am meisten Titrationslösung bis zur Erreichung des Biuretpunktes, weil die Aminosäuren Glycin und Alanin das kleinste Molekulargewicht haben. Andererseits ist bei Casein, Vitellin, und Paracasein, die fast dieselbe Zusammensetzung haben, auch der Biuretpunkt fast identisch. K. Hinsberg.

Zur gravimetrischen Bestimmung von Eiweißkörpern eignet sich nach F. L. Hoch und B. L. Vallee[2] die Fällung mit Trichloressigsäure. Die verwendeten Eiweißlösungen (Rinderserumalbumin, menschliches Serumalbumin, Insulin und Hypophysenextrakte) werden nach 3 Methoden untersucht: 1. UV-Absorption bei 280 mμ, 2. Stickstoffbestimmung nach Kjeldahl und 3. gravimetrisch nach Fällung mit Trichloressigsäure. Der Niederschlag mit Trichloressigsäure wird abzentrifugiert und unter verschiedenen Bedingungen getrocknet. Es wird die Trocknung bei 110° C empfohlen. Zurückbleibendes Wasser kann zu Irrtümern führen. Bei dem Vergleich der verschiedenen Methoden wird zum Teil gute Übereinstimmung gefunden. K. Hinsberg.

Eine kritische Übersicht über mikroanalytische Methoden zur Bestimmung der Blutplasmaeiweiße ist von H. B. Salt[3] zusammengestellt worden. Die Arbeit befaßt sich zuerst mit physikalischen Methoden, wie z. B. Messung des spezifischen Gewichtes, weiter mit der Berechnung des Eiweißgehaltes aus einer Stickstoffbestimmung und mit Farbreaktionen, die sich entweder auf den Tyrosin- oder Arginingehalt beziehen oder die die Ninhydrin- oder Biuretreaktion als Grundlage haben. Die getrennte Bestimmung der einzelnen Plasmaeiweißkörper kann elektrophoretisch, durch Alkoholfällung oder durch Aussalzen erfolgen. Auf die Verfahren wird in großen Zügen eingegangen. Weiterhin wird die Abtrennung und Bestimmung gewisser Proteine auf Grund besonderer Eigenschaften behandelt. So kann das *Fibrinogen* nach Rekaltifizierung oder durch Zusatz von 12,5% Na_2SO_3-Lösung abgeschieden werden. Es läßt sich auch durch Protamin unter Zusatz von Calciumacetat ausfällen. Zur Bestimmung von *Cryoglobulin* ist von A. B. Lerner und G. R. Greenberg[4] bzw. A. B. Lerner, C. P. Barnum und C. J. Watson[5] eine Technik ausgearbeitet worden, wonach es aus dem Plasma durch Abkühlung ausgefällt werden kann. Von anderer Seite ist eine Bestimmung der *Globuline* durch Viscositätsmessung vorgeschlagen worden und die Metallbindungsfähigkeit von Globulin, besonders von β_1-Globulin, kann durch absorptiometrische Titration gemessen werden. *Albumin* bildet mit Hämin eine spezifisch gefärbte Verbindung, auf Grund derer eine Albuminbestimmung vorgenommen werden kann. Die säurelöslichen *Mucoproteine* können im Perchlorsäurefiltrat durch eine der üblichen Polysaccharidfarbreaktionen quantitativ bestimmt werden. Spezifische Proteinfraktionen können durch immunochemische Fällung erhalten werden und entweder durch Trübungsmessung oder durch eine Kjeldahl-Mikrobestimmung erfaßt werden. — Die Arbeit enthält 112 Literaturzitate und gibt eine Übersicht über die wesentlichsten Methoden. K. Hinsberg.

[1] Beck, G.: Mirochem. verein. Mikrochim. Acta (Wien) **39**, 22 (1952); vgl. diese Z. **139**, 124 (1953).

[2] Analyt. Chemistry **25**, 317—320 (1953). Inst. Technol. Cambridge, Mass. (USA).

[3] Analyst (London) **78**, 4—14 (1953). Biochem. Lab., Roy Infirmary, Worcester.

[4] J. biol. Chemistry **162**, 429 (1946).

[5] Amer. J. med. Sci. **214**, 416 (1947).

Proteinbestimmungen im Serum führt A. García-Sánchez[1] mit dem als „Armil" bekannten N-Cetyl-N-dimethylbenzylammoniumchlorid (von der „Sociedad General de Farmacia" hergestellt und als Desinfektionsmittel bekannt) aus, anknüpfend an die Methoden von I. Abelin und H. Pfister[2] mit Aerosol M. — *Arbeitsweise.* 4 ml einer 1%igen Serumlösung versetzt man mit 0,2 ml 2 n Natronlauge und titriert mit „Armil" bis zur starken Trübung. Die Armillösung wird von der 10%igen handelsüblichen Lösung ausgehend auf 0,2% eingestellt. Durch Vergleichsbestimmungen nach Phillips und van Slyke ergab sich, daß 0,1 ml der angewandten „Armillösung" 0,61 g-% Eiweiß entsprach. Der Verf. empfiehlt, bei der Bestimmung stets eine Probe mit bekanntem Eiweißgehalt mitzutitrieren, um so auf gleiche Trübung zu kommen und den Faktor genau ermitteln zu können. Diese Bestimmung stimmt mit Eiweißbestimmungen nach Kjeldahl innerhalb einer Fehlergrenze von 0—5% überein. Irmgard Schweitzer.

Die photoelektrische Konzentrationsbestimmung von Serumeiweiß auf Papierelektropherogrammen, die gewöhnlich durch Anfärbung mit einem Farbstoff und Messung der Farbintensität erfolgt, beruht u. a. auf der Verknüpfung beider Größen durch das Lambert-Beersche Gesetz. M. Wenzel und H. Hanson[3] prüften diese Beziehung mit dem Photozellengalvanometer von Grassmann nach und fanden, daß das Lambert-Beersche Gesetz bei Serumeiweiß, das mit Bromphenolblau angefärbt ist, in den Meßbereichen der Relativkonzentration zwischen 100 und 400 gilt. H. Sperlich.

Die photometrische Mikrobestimmung der γ-Globuline im Liquor cerebrospinalis wird von A. Saifer und T. Narby[4] durch eine elegante Flockungsreaktion und nachfolgende Ninhydrinfärbung durchgeführt. Zur Flockung benutzen Verff. eine Emulsion von Desoxycholsäure und Cholesterin (DCAC). — *Arbeitsweise.* Zuerst werden 0,125 g Desoxycholsäure und 0,125 g Cholesterin in 100 ml absolutem Alkohol gelöst. Dann erwärmt man 35 Vol 0,0143 n Natronlauge auf 65 °C, gibt 2 Vol der alkolischen Lösung tropfenweise zu und erwärmt bis kurz unter dem Siedepunkt, wobei insgesamt 30 Vol übrigbleiben. Von dem zu untersuchenden Liquor werden 1,5 bis 3,5 ml in Cellophanhülsen gegen fließendes Leitungswasser dialysiert. Dabei nimmt das Volumen des Liquors ab. Man überführt in einem Meßzylinder, der 0,08 ml 11%ige NaCl-Lösung enthält, füllt auf 5 ml auf, entnimmt 3 mal je 1,00 ml und fügt zu 2 Proben 0,5 bzw. 1,0 ml einer Standard-γ-Globulinlösung zu. Die 1. und 2. Probe enthält eine entsprechende Menge Kochsalz, alle Proben enthalten weiter 0,5 ml Phosphatpuffer (p_H 7,0) und 0,75 ml DCAC. Die Ausflockung erfolgt bei 37,5° C in 45 min. Dann zentrifugiert man, entfernt die Flüssigkeit vollständig, wäscht den Niederschlag 2 mal mit Äther, löst dann in 1,0 ml 0,85%iger Kochsalzlösung und 0,2 ml 1 n Natronlauge und fügt 0,5 ml frische Ninhydrinlösung zu. Man mischt, läßt 30 min stehen, gibt 1,5 ml n Propanol-Wasser hinzu und colorimetriert nach dem Zentrifugieren bei 570 mμ. Die Ninhydrinlösung besteht aus einer Lösung von 68 mg wasserfreiem $SnCl_2$ in 50 ml Citratpuffer p_H 5, der 2 g umkristallisiertes Ninhydrin und 50 ml gereinigter Äthylenglykolmonomethyläther zugefügt sind. Man schüttelt bis zur vollständigen Lösung. Im Vergleich mit der immunochemischen Methode werden fast identische Werte gefunden; bei Zusatzversuchen ist der Fehler nicht größer als 0,7%. Unter 100 Analysen normaler Liquores werden Gipfel in der Ver-

[1] Laboratorio (Granada) **17**, 317—322 (1954). Pontevedra (Spanien).

[2] Schweiz. med. Wschr. **81**, 34 (1951).

[3] Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. **292**, 137—138 (1953). Univ. Halle/S.

[4] J. Labor. clin. Med. **42**, 316—325 (1953). Jewish Sanit. Hospital f. chron. Diseases, Broocklyn, N. Y. (USA).

teilungskurve erstens bei 2,6 und zweitens bei 4,5 mg-% γ-Globulin gefunden. In pathologischen Seren liegt der erste Gipfel bei 6,5, der zweite bei 11,1 mg-%.
K. Hinsberg.

Über die chromatographische Trennung einheitlicher Eiweißkörper haben C. H. W. Hirs, S. Moore und W. H. Stein[1] berichtet. Zur Trennung eignet sich das Kunstharz IRC-50. In der vorliegenden Arbeit bringt C. H. W. Hirs[2] einen Beitrag zu diesem Problem, indem er die Vorbehandlung des Harzes genau beschreibt. Das feuchte Natriumsalz des pulverisierten Kunstharzes kann durch einen Strom von dest. Wasser durch ein Sieb (200 mesh) getrieben werden. Die Ausbeute beträgt zwar nur 1% und man erhält noch weitere 5% Ausbeute bei 120 mesh. Um Chymotrypsinogen zu bestimmen, muß es mit Trypsin aktiviert werden, gewöhnlich bei 5° C während mehrerer Tage, wobei ungefähr 85% Trypsinogen in Chymotrypsin umgewandelt werden. Die proteolytische Aktivität kann durch Messung der Absorption bei 280 mμ im Verhältnis zum Chymotrypsin bestimmt werden. Die Elution des Chymotrypsinogens erfolgt mit 0,2 m Phosphatpuffer (p_H 6,02). Dabei erhält man zwischen 40 und 50 ml die Hauptmenge des Fermentes und bei einer Anzahl von rekristallisierten Proben konnte völlige Homogenität festgestellt werden. In anderen kommerziellen Präparaten waren viele Verunreinigungen vorhanden. Mit der Methode gelingt es, α-Chymotrypsinogen von Chymotrypsinogen B oder Chymotrypsinogen vom Pankreassaft zu trennen. K. Hinsberg.

Papierelektrophorese von Eiweißen. C. L. Harders und J. M. van Mulken[3] teilen dazu ihre Methodik mit. Sie verwenden einen mit einer Glasplatte abgedichteten Aquariumskasten. Das Papier (Whatman Nr. 1 oder Schleicher & Schüll Nr. 2043b) wird in Streifen von etwa 50 cm Länge und 20 cm Breite über einen Glasstab hängen gelassen. Die Enden tauchen in zwei Glaskästen mit Pufferlösung (Veronal-Veronalnatrium 0,1—0,05 m, p_H = 8,6), die wiederum über zwei dickliche Papierfilterstreifen in Verbindung stehen mit zwei gleichen, die Kohleelektroden führenden Glaskästen. Es wird bei einer Spannung von etwa 300 Volt und mit 70 mA bei einer Temperatur von 25° C gearbeitet. Durch einen regelbaren Widerstand von 25000 Ohm (5 W) läßt sich die Spannung beliebig verändern. Nach den Erfahrungen der Verff. wird durch das Aufhängen der Streifen eine bessere Trennung erreicht als beim Pressen zwischen zwei Glasplatten. Das Auftragen der Eiweißlösung geschieht in Form von etwa 5 cm breiten Streifen (30 cm lang), so daß etwa 4 Laufbahnen auf dem Papier unterzubringen sind. Der Streifen wird nach beendeter Elektrophorese unmittelbar, d. h. ohne vorherige Trocknung in ein Farbbad getaucht, bestehend aus 100 ml Alkohol, 10 ml Eisessig, 90 ml Wasser und, darin bis zur Sättigung gelöst, Azocarmnin B (Bayer). Nach 15 min hält man den Streifen in einem Fixierbad aus Alkohol (15 min lang) und entfernt dann den Überschuß an Farbe in einer Mischung aus 1 Liter Alkohol, 2 Liter Wasser und 30 ml Eisessig. Die Auswertung erfolgt photometrisch. L. Acker.

Über die Papierelektrophorese von Plasma-Proteinen (Rinder-Albumin und -γ-Globulin, menschliches Albumin, α_2-, β- und γ-Globulin) stellte S. C. Sommerfelt[4] Untersuchungen an, wobei er eine Modifikation der Methode von W. Grassmann und K. Hannig[5] anwandte (frei hängendes Filtrierpapier, Anfärbung mit Amido-

[1] J. biol. Chemistry **200**, 493 (1953).

[2] J. biol. Chemistry **205**, 93—99 (1953). Rockfeller Inst. f. Medic. Res., New York.

[3] Pharmac. Weekbl. **88**, 673—683 (1953) [Holländisch]. Gemeente-Apotheek, S'Gravenhage (Holland).

[4] Scand. J. Clin. Laborat. Invest. **5**, 299—307 (1953). Univ. Hosp., Uppsala (Schweden) und Drammen Hosp., Drammen (Norwegen).

[5] Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. **290**, 1 (1952); vgl. diese Z. **140**, 293 (1953).

schwarz 10 B-Bayer, direkte Photometrie der angefärbten Zonen). Verf. stellte fest, daß Proteine bei der Wanderung teilweise vom Papier adsorbiert werden. Die Adsorption ist unabhängig von der Menge des Proteins, d. h. nach der Sättigung des Papiers mit einem Protein werden gleiche Proteine nicht mehr, andere Fraktionen nur noch wenig adsorbiert. Durch Elektrophorese können daher entgegen manchen Literaturangaben verschiedene Proteinfraktionen nicht vollständig getrennt werden. Globulinfraktionen enthalten immer etwas adsorbiertes Albumin, das vor dem Globulin wandert. Dadurch wird die unterschiedliche Anfärbbarkeit der Proteinfraktionen zum Teil kompensiert. Albumin wird am stärksten, α_2-Globulin am schwächsten von Amidoschwarz 10 B angefärbt.

Die papierelektrophoretische Untersuchung der Eiweißstoffe von Exsudaten und Transsudaten kann nach I. Berkeš, D. Dević-Mikac und V. Karas[1] ohne vorangehende Konzentration vorgenommen werden. Die Elektrophorese erfolgt in feuchter Kammer mit 0,02–0,06 ml frischen Punktats auf Whatman Nr. 1-Papierstreifen (44 × 4cm) mit 2 V/cm während 18 Std. Die Streifen werden mit 0,04 m Phosphatpuffer (Na_2HPO_4 – Na_3PO_4, p_H 9,2) angefeuchtet. Zur Anfärbung dient eine 0,05%ige Bromphenolblaulösung mit Sublimat und Essigsäure, zur Entfärbung der eiweißfreien Stellen 0,5%ige Essigsäure[2]. Die angefärbten Streifen können nach Aufteilung in Fraktionen mit 0,01 n Natronlauge eluiert und colorimetrisch ausgewertet werden. H. Sperlich.

Zur Photometrie von Proteinen auf Papierelektrophoresestreifen empfehlen E. M. Crook, H. Harris, F. Hassan und F. L. Warren[3] folgende *Arbeitsweise:* Der Streifen wird mit Azocarmin B angefärbt und die Farbtiefe über den ganzen Streifen in einem genau geschilderten, empfindlichen, kontinuierlich arbeitenden Apparat bestimmt. Nur in einem sehr engen Konzentrationsbereich gilt das Beersche Gesetz. Es wird dargetan, wie die Abweichungen quantitativ berücksichtigt werden können. Ein Vergleich mit Resultaten an menschlichem Serum, die bei der Elektrophorese mit der klassischen Tiselius-Apparatur erhalten wurden, zeigte, daß die Anwendung der Papierelektrophorese und der exakten Auswertung mit dem etwa nur $^1/_{10}$ so teuren hier geschilderten Apparat bei viel kürzerer Arbeitszeit zu Fehlern gleicher Größenordnung führt. Gude Drepper.

Über eine photoelektrische Analyse der elektrophoretischen Eiweißfraktionen durch ein früher veröffentlichtes Areameter[4] berichten J. Sendroy jr. und L. P. Cecchini[5]. Die Elektrophoresestreifen werden photokopiert und dann mit dem Auswertegerät ausgemessen. Im Vergleich mit einer planimetrischen Methode ergibt sich weitgehende Übereinstimmung. Die Verff. betonen, daß das neue Verfahren eine wesentliche Arbeitsvereinfachung darstellt. K. Hinsberg.

Zur elektrophoretischen Bestimmung des Fibrinogengehaltes vom Plasma ist nach G. Barbagallo-Sangiorgi und A. Caputo[6] die gleichzeitige Aufnahme des Serumdiagramms zur Bestimmung der γ_1-Globuline notwendig. Die Untersuchungen,

[1] Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. **294**, 142–148 (1953). Univ. und Allg. Krankenhaus, Zagreb (Jugoslavien).

[2] Kunkel, H. G., und A. Tiselius: J. gen. Physiol. **35**, 89 (1951); vgl. diese Z. **141**, 139 (1954).

[3] Biochemic. J. **56**, 434—444 (1954). Univ. College, London.

[4] Sendroy, jr., J., and L. P. Cecchini; Proc. Soc. exp. Biol. Med. **81**, 478 (1952).

[5] Arch. Biochem. Biophysics **45**, 161—168 (1953). Nation. Naval Med. Center, Bethesda, Md. (USA).

[6] Boll. Soc. ital. Biol. sperim. **29**, 827—829 (1953). Univ. Palermo (Italien).

vorzugsweise in Fällen von Lebercirrhose, wurden mit dem TISELIUS-Gerät ausgeführt, unter Benutzung eines Veronal-Natriumveronalpuffers p_H 8,6 und der Ionenstärke 0,1. Als Anticoagulans dienten 30 mg Kaliumoxalat je 10 ml Blut.

Nach der Feststellung von I. BERKEŠ und V. KARAS[1] kann *Fibrinogen papierelektrophoretisch als selbständige φ-Komponente* erhalten werden. Dieser Befund steht im Gegensatz zu den von H. ANTWEILER[2] mitgeteilten, wonach die Papierfaser Fibrinogen so festhalte, daß es nicht wandern könne. Die Versuche fanden in der feuchten Kammer nach den Verff.[3], mit einer Kühleinrichtung mit fließendem Leitungswasser, auf mit Phosphatpuffer (p_H 9,2) befeuchtetem Whatman Nr. 1-Papierstreifen statt. Die benutzten Proben von *Plasma*, *Serum* und *peritonealem Punktat* stammten vom gleichen Patienten (Carc.-Uteri); bei normalen Individuen wurde eine φ-Komponente nur beim Plasma erhalten. H. FREYTAG.

Blutzucker. T. P. SALO[4] schlägt für *die Bestimmung des Blutzuckers die Perjodatreaktion* vor, die, wie bekannt, stöchiometrisch verläuft. 1 Mol Glucose verbraucht 10 Oxydationsäquivalente. Die Reaktion ist allerdings nicht spezifisch für Glucose, da verschiedene Stoffe im Blut ebenfalls Perjodsäure verbrauchen. Ähnliches gilt aber auch für andere Methoden. Die Auswertung kann sowohl titrimetrisch als auch colorimetrisch erfolgen. — Bei der *titrimetrischen Methode* versetzt man einen aliquoten Teil der Zuckerlösung mit etwa 5 ml gesättigter $NaHCO_3$-Lösung, gibt genau 5,00 ml ungefähr 0,012 m Perjodsäurelösung (H_5JO_6) zu und kann 30 min nach Zusatz von 20%iger Kaliumjodidlösung den Überschuß an Jodsäure mit 0,01 n Arsenitlösung titrieren. Der Verbrauch an arseniger Säure gegenüber einem Leerwert ist dem Zuckergehalt proportional. 1 ml 0,01 n As_2O_3-Lösung entspricht 0,18 mg Glucose. — Bei *der colorimetrischen Bestimmung* versetzt man die Zuckerlösung mit 1 ml gesättigter $NaHCO_3$-Lösung und 5,00 ml 0,004 m H_5JO_6-Lösung. Nach 30 min gibt man 1 ml Kaliumjodidlösung zu und kann die entsprechende Farbe unmittelbar oder nach weiteren 30 min bei 420 mμ colorimetrieren. Es ist empfehlenswert, die Colorimetrierung möglichst bald nach Zusatz von Kaliumjodid durchzuführen. Die Ausbeuten in reinen Lösungen und in Zusatzversuchen zu Blut sind ausgezeichnet. Gegenüber der colorimetrischen Methode von FOLIN-WU wird mit der titrimetrischen Methode bei Diabetikern meist etwas weniger gefunden. Der Verf. betrachtet seine Werte als die wirklichen Glucosewerte. K. HINSBERG.

Eine vereinfachte colorimetrische Methode zur Blutzuckerbestimmung beschreiben A. M. ASATOOR und E. J. KING[5]. — *Ausführung.* 0,05 ml Blut werden mit 3,9 ml isotonischer Natrium-Kupfersulfatlösung (30 g $Na_2SO_4 \cdot 10\,H_2O$ — 6 g $CuSO_4 \cdot 5\,H_2O$ je Liter) und 0,05 ml 10%iger Natriumwolframatlösung vermischt und filtriert oder zentrifugiert. 2 ml des Filtrates erwärmt man anschließend mit 2 ml HARDING B-Reagens (12 g Kaliumnatriumtartrat, 20 g Na_2CO_3, 25 g $NaHCO_3$ und 18 g Kaliumoxalat/1 l) in einem mit Wattebausch verschlossenen Reagensglas 10 min lang im siedenden Wasserbad, kühlt und versetzt mit 6 ml Phosphorwolframmolybdänsäure (FOLIN-WU-Reagens) oder 6 ml NELSONS Reagens (Arsenmolybdänsäure) und 5 ml Wasser. Die blaue Farbe vergleicht man gegen gleichzeitig und gleichartig behandelte Glucosetestlösungen (1,0, 1,5, 2,5 ml einer Stammlösung von 100 mg Glucose/100 ml). H. POHL.

[1] Biochem. Z. **324**, 499—501 (1953). Univ. Zagreb (Jugoslavien).
[2] Die quantitative Elektrophorese in der Medizin, S. 43. Springer, 1952.
[3] BERKEŠ, I., u. V. KARAS; Arhiv kemiju (Zagreb) **24**, 73 (1952).
[4] Arch. Biochem. Biophysics **42**, 106—113 (1953). Univ. Knoxville, Tenn. (USA).
[5] Biochemic. J. (Proc.) **56**, XLIV (1954). Postgraduate Medical School, London.

Nach Ansicht von S. J. Prokhovnik und J. F. Nelson[1] genügen die bisherigen Vorschriften *zur Bestimmung des Blutzuckers* nicht den praktischen Anforderungen. Verf. geben daher eine neue Anweisung und zwar hämolysieren sie eine Blutprobe mit einem Gehalt von 20—300 μg Glucose mit 5 ml Wasser, enteiweißen durch Zusatz von je 0,2 ml 0,6 n Natronlauge und 0,2 ml 10%iger Zinksulfatlösung, entnehmen nach 10 min von dem klaren Zentrifugat 2 mal 2 ml, die unter Eiskühlung mit 4 ml Anthronreagens (0,2%ig in 95%iger Schwefelsäure) versetzt werden. Als Leerwert dient dest. Wasser, als Standardwert dienen 40 μg Glucose, die ebenso behandelt werden. Die Versuchsgläser werden durch einen Gummistopfen, der mit einer dicken Capillare armiert ist, verschlossen, 7 min im Wasserbad gekocht, schnell abgekühlt und bei 620 mμ colorimetriert. Die Erhitzungszeit ist kritisch. Glucose erreicht ihr Maximum nach 6 min und behält es 2 min lang, nach dem Abkühlen ist die Farbe einige Stunden konstant. Dasselbe gilt für Glykogen, während Rohrzucker die maximale Färbung nach 4 min Erhitzen zeigt. Anticoagulantien, wie Citrat, Fluorid, Heparin oder Oxalat sind ohne Einfluß. Im allgemeinen wird weniger gefunden als nach Hagedorn-Jensen, da aber nach vollständiger Glykolyse nach Hagedorn-Jensen noch ein Restreduktionswert von 19 bzw. 23 mg-% Glucose übrig bleibt, während bei der colorimetrischen Bestimmung mit Anthron nur noch 6 oder 3,2 mg-% gemessen werden, glauben Verff., daß die Anthronwerte die wirklichen Zuckerwerte darstellen.

Die Verwendung von Überchlorsäurefiltraten und stabilisiertem Anthronreagens zur Bestimmung von Serumglucose wird von V. Kapuscinski und B. Zak[2] genauer untersucht. *Arbeitsweise.* 400 mg Anthron in 100 ml Eisessig ist im Eisschrank stabil. Zum Gebrauch wird 1 Teil dieser Lösung mit 4 Teilen gekühlter konz. Schwefelsäure (0 °) im Eisbad unter Rühren gemischt. Zur Eiweißfällung wird 0,5 ml Serum mit 9,5 ml 10%iger Perchlorsäure geschüttelt, nach 10 min filtriert und zu 5 ml Anthron-Schwefelsäure 2 ml dieses klaren Filtrats gegeben, so daß sich 2 Schichten bilden. Man mischt sorgfältig, bis alle Schlieren verschwunden sind, läßt auf Raumtemperatur abkühlen und colorimetriert bei 620 mμ. Man kann auch 5 ml Anthronreagens mit dem Filtrat bei Eistemperatur mischen, dann 5 min im heißen Wasserbad zur Reaktion bringen, nach 5 min Abkühlen und Colorimetrieren oder auch nur 0,5 ml Anthronessigsäure mit dem Filtrat mischen und anschließend 5 ml Schwefelsäure zusetzen. Der Reaktionsmechanismus wird an Hand von Formeln erläutert. Im Vergleich mit der colorimetrischen Methode nach M. Somogyi[3] und A. Nelson[4] ergibt sich bei 12 Serumproben höchstens ein Unterschied von 4 mg-%. Ein Leerwert muß jeweils mit angesetzt werden. K. Hinsberg.

Zur colorimetrischen Mikro-Zuckerbestimmung benutzen B. Mendel, A. Kemp und D. K. Myers[5] die Farbreaktion der Zucker mit 96%iger Schwefelsäure[6]. Glucose wird durch die heiße 96%ige Schwefelsäure in 5-Oxymethylfurfurol übergeführt, eine Substanz, die mit einem Zwischenprodukt der Reaktion eine Blaufärbung liefert. Die Intensität der Färbung ist dem Zuckergehalt proportional. Die Reaktion ist spezifisch für Glucose, Fructose und Saccharide, welche die beiden Hexosen enthalten (Tabelle im Orig.). Fructose liefert eine etwa 20% stärkere

[1] Austral. J. exp. Biol. med. Sci. **31**, 279—282 (1953). Univ. Melbourne (Austr.).
[2] Amer. J. clin. Pathol. **23**, 784—788 (1953). Wayne Univ. und Receiv. Hosp., Detroit, Mich. (USA).
[3] J. biol. Chemistry **160**, 69 (1945).
[4] J. biol. Chemistry **153**, 375 (1944).
[5] Biochemic. J. **56**, 639—646 (1954). Univ. Amsterdam (Holland).
[6] Mendel, B., und M. Bauch: Klin. Wschr. **5**, 1329 (1926).

Färbung. Das Absorptionsspektrum der Blaulösung zeigt Maxima bei 255, 318 und 520 mμ. — *Arbeitsweise.* 1 ml der wäßrigen Glucoselösung (nicht mehr als 15 mg Glucose in 100 ml) gibt man zu 3 ml 96%iger Schwefelsäure, mischt durch kräftiges Schütteln, wobei die Temperatur auf etwa 85° C ansteigt, und erhitzt genau 6,5 min im siedenden Wasserbad (100° C). Nach dem Abkühlen unter fließendem Wasser wird die bläulichrosa Färbung bei 520 mμ gemessen. (Die Färbung bleibt während einiger Stunden unverändert erhalten.) — *Im Blut* läßt sich die Glucose nach dem Enteiweißen bestimmen. 0,1 ml Blut werden mit 1,9 ml einer 5%igen Trichloressigsäurelösung, die einen Zusatz von 0,1% Silbersulfat enthält, gemischt und 5 min zentrifugiert (3000 U/min). In 1 ml der überstehenden Flüssigkeit führt man wie angegeben die Bestimmung mit 3 ml 96%iger Schwefelsäure durch.

A. Kemp und A. J. M. Kits van Heijningen[1] benutzen das vorstehende Verfahren zur colorimetrischen *Mikrobestimmung von Glykogen in Geweben.* Die Methode besitzt den Vorteil, daß sie mit kleinsten Mengen schnell durchgeführt werden kann (10 Bestimmungen in 1 Std). *Bestimmung von Glykogen und Glucose.* 25 bis 75 mg Muskel oder Leber werden in einem graduierten Zentrifugenglas mit 5 ml einer Trichloressigsäure-Ag_2SO_4-Lösung verrieben, nach Bedecken 15 min ins siedende Wasserbad gestellt und schließlich unter fließendem Wasser gekühlt. Mit der die Eiweißstoffe fällenden Lösung füllt man dann bis zur Marke auf und zentrifugiert (3000 U/min, 5 min). Mit 1 ml der klaren Lösung wird nach B. Mendel u. Mitarb.[2] die colorimetrische Glucosebestimmung ausgeführt. Glykogen färbt ebenso intensiv wie Glucose. Die Intensität der Färbung ist nur dann dem Glykogengehalt proportional, wenn in 100 ml Extrakt nicht mehr als 150 μg Glykogen enthalten sind. — *Bestimmung von Glykogen und Glucose nebeneinander.* Das Gewebe wird mit 5 ml 80 Vol%igem Methanol verrieben und zentrifugiert. Die überstehende, glucosehaltige Lösung wird mit etwa 10 mg Holzkohle versetzt und zum Entfernen des Methanols im Vakuum erwärmt. Man füllt nun mit der eiweißfällenden Lösung auf 5 ml auf, zentrifugiert und bestimmt die Glucose in 1 ml der Lösung wie vorher beschrieben. Da Glykogen in 80 Vol%igem Methanol unlöslich ist, muß dieses aus dem Rückstand des Methanolextraktes bestimmt werden. Dieser wird enteiweißt, 15 min auf 100° C erhitzt und zur Glykogenbestimmung weiterverarbeitet. J. Koch.

Die Trennung von Glykogen und Galactogen durch Elektrophorese auf Seide haben M. Geldmacher-Mallinckrodt und H. Weinland[3] untersucht. Werden 0,01 ml Glykogen in 10%iger wäßriger Lösung auf Whatman-Papier Nr. 1 anodennahe aufgetragen, und wird nach W. Grassmann und K. Hannig[4] in Veronalnatrium-Natriumacetatpufferlösung (p_H 6,4—9,3) bei 5—7° C elektrolysiert (4 Std), so läßt sich eine deutliche Wanderung des Glykogens in Richtung auf die Kathode feststellen, wenn der Streifen anschließend 1 Std bei 37° C in gesättigtem Wasserdampf gehalten wird, dann bei dieser Temperatur mit Speichel besprüht, eine Stunde der Verspeichelung überlassen bleibt, und der entstandene Zucker schließlich nach Trocknen mit Warmluft mit Benzidin-Eisessig-Alkohol angefärbt wird. — Sollen Polysaccharide identifiziert werden, die nur schwer oder nur unter Bedingungen verzuckern, bei denen auch das Papier angegriffen wird, so läßt sich das gleiche Verfahren anwenden, wenn an Stelle von Papier Seide verwendet wird. Die Identifizierung größerer Gehalte als 500 μg Polysaccharid gelingt dann einfach durch Besprühen der feuchten Streifen mit 2 n Salzsäure und Erwärmen während

[1] Biochemic. J. **56**, 646—648 (1954). Univ. Amsterdam (Holland).
[2] Vgl. das vorhergehende Referat.
[3] Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. **292**, 65—72 (1953). Univ. Erlangen.
[4] Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. **290**, 1 (1952); vgl. diese Z. **140**, 293 (1953).

15 min auf 115° C (Furfurolbildung). Die Lage der Polysaccharide macht sich durch schwarzbraune Färbung kenntlich. Auf Seide lassen sich aber auch 50 mg Polysaccharid als intensiv gefärbter Fleck sichtbar machen, wenn die Reaktion nach MOLISCH ausgenutzt und das getrocknete Pherogramm mit alkoholischer, schwefelsaurer α-Naphthollösung (5 g α-Naphthol in 50 ml 96%igem Alkohol und Zusatz von 4 ml konz. Schwefelsäure unter Kühlung) besprüht und 10 min bei 105° C gehalten wird, was bei sehr geringen Polysaccharidgehalten zweckmäßig 2—3 mal wiederholt wird. — Die Elektrophorese von Glykogen und Galactogen auf Seide erfolgt am besten bei p_H 9,3 (10,465 g Veronalnatrium, 6,909 g Natriumacetat und 24,00 ml 0,1 n Salzsäure werden mit doppelt destilliertem Wasser auf 1 Liter aufgefüllt). Die Seide (80 × 30 cm) wird zuvor mit Seifenlauge gewaschen, reichlich mit warmem Wasser, dann 5 mal mit je 2 Liter dest. Wasser gespült, frei hängend getrocknet und fadengerade in 4 × 30 cm Streifen geschnitten. Die Streifen werden mit Pufferlösung getränkt, auf Filtrierpapier gelegt und an der Auftragstelle, 6 cm von der Mitte entfernt, kräftig mit Filtrierpapier abgetupft. Nach Aufspannen des Streifens und Auftragen von 0,01 ml Probe (entsprechend etwa 1 mg Polysaccharid) wird bei 4—7° C 4 Std elektrolysiert (durch längere Elektrolyse wird die Trennung nicht mehr verbessert). Glykogen wandert voraus. Die Identifizierung erfolgt durch Vergleich eines mit α-Naphthollösung und eines zweiten nach Verspeichelung mit Benzidin-Eisessig behandelten Streifens. Zur Trennung eines Gemisches mit 5% Glykogen neben 95% Galactogen muß 1 mg, bei 5% galactogenhaltigen Glykogen müssen 2 mg aufgetragen sein. Liegt die Konzentration einer Komponente unter 5%, so ist deren Nachweis nicht mehr möglich.

In Fortführung der vorstehenden Arbeiten haben M. GELDMACHER-MALLINCKRODT und F. MAY[1] *die elektrophoretische Trennung von Galactogen und Glykogen bei Anwesenheit verschiedener Kohlenhydrate*[2] an tierischer Seide unter den gleichen Bedingungen wie früher (Veronalnatrium-Natriumacetatpufferlösung, p_H 9,3, 6° C, anodennaher Startpunkt von 2 mg Substanzgemisch, 220 V, Apparatur von W. GRASSMANN, K. HANNIG und M. KNEDEL[3]) untersucht und festgestellt, daß Glykogen auf diese Weise von keinem der untersuchten Kohlenhydrate getrennt werden kann, daß die Abtrennung des Galactogens aber in jedem Fall gelingt, wobei es stets die langsamer wandernde Substanz ist. Da die Molekülgröße demnach für die Trennung belanglos ist, da die Trennung ferner nicht davon abhängt, ob es sich um α- oder β-glykosidische Bindungen oder reduzierbare bzw. nichtreduzierbare Zucker handelt und das Verhalten auch durch einen l-Galactosegehalt des Galactogens nicht erklärt werden kann, wurden auch Gemische mit den Zuckern nahestehenden Substanzen geprüft und zwar mit Glucosamin, l-Fucose und Galacturonsäure (Anfärben mit Benzidin bzw. α-Naphtholreagens). Alle drei Substanzen wandern wie Galactogen langsamer als Glykogen und die anderen Kohlenhydrate, werden aber auch von Galactogen getrennt. Diese Ausnahmestellung des Galactogens wird auf den Gehalt einer elektrisch nicht neutralen Komponente zurückgeführt und durch Elektrophorese der Hydrolyseprodukte wahrscheinlich gemacht. Zur Hydrolyse werden 100 mg Galactogen bzw. Glykogen, in 4 ml 3%iger Schwefelsäure gelöst, 4 Std im siedenden Wasserbad erhitzt, dann mit Bariumcarbonat

[1] Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. **293**, 256—263 (1953). Univ. Erlangen.

[2] Es wurden verwendet: d-,l-Xylose, Arabinose, Glucose, Galactose, Mannose, Fructose, Malzzucker, Trehalose, Milchzucker, Melibiose, Rohrzucker, Raffinose, Dextrin (weiß und gelb), Amylopektin, Hefegummi, Inulin, die in 10%iger Lösung (Amylopektin nur 2,5%ig) mit gleichen Teilen 10%iger Glykogen- bzw. Galactogenlösung vermischt wurden.

[3] Dtsch. med. Wschr. **76**, 133 (1951).

neutralisiert und zentrifugiert. Nach Verdünnen mit Schwefelsäure bis auf p_H 6 wird klarzentrifugiert und die Lösung auf 1 ml eingeengt. 0,02 ml dieses Hydrolysats, das einer etwa 10%igen Zuckerlösung entspricht, werden der Elektrophorese unterworfen. Galactogenhydrolysat liefert unter diesen Umständen vier verschiedene mit Benzidin nachweisbare Zonen (mit α-Naphtholreagens lassen sich nur zwei Zonen anfärben), während beim Glykogenhydrolysat wiederum nur eine Zuckerzone auftritt. Die Analyse der Zonen, die durch Chromatographie der Eluate der jeweiligen Zonen auf S. & S.-Papier 2043 b mit Butanol-Eisessig-Wasser 4:1:5 (24 Std) und Besprühen mit Benzidin angestrebt wird, läßt quantitative Schlüsse noch nicht zu, da zwei der Zonen bisher nur in unzureichender Menge anfielen. K. Cruse.

Die Trennung von Chitosamin und Chondrosamin in komplexen Hydrolysaten aus biologischem Material wird von J. E. Eastoe[1] an Ionenaustauschern (Dowex 50) nach S. Moore und W. H. Stein[2] durchgeführt. Chitosamin erscheint im Eluat nach 40 ml und Chondrosamin nach 50 ml gut getrennt von Tyrosin und Phenylalanin und den vorlaufenden anderen Aminosäuren. Tryptophan, das sich mit den Hexosaminen überschneiden würde, wird bei der Hydrolyse zerstört. Die Fraktionen werden mit Ninhydrinreagens nach Moore und Stein quantitativ ausgewertet. Die Methode ist besonders geeignet, um kleine Mengen Chitosamin und Chondrosamin in Hydrolysaten von Polysacchariden mit oder ohne Protein zu bestimmen. Mehr als 98% des totalen Stickstoffs (Ninhydrinpositive Komponenten) wurde aus einem Protein-Kohlenhydratgemisch (8% Hexosamine und mehr als 60% Aminosäuren) nach 24stündiger Hydrolyse mit einem Überschuß von 20%iger Salzsäure bei 100° C wiedergefunden. Hildegard Telschow.

Auf die colorimetrische Bestimmung von Transferrin im Plasma übt die Temperatur seiner Aufbewahrung einen beträchtlichen Einfluß aus, wie S. Ventura und F. Gobbi[3] feststellten. Ein 24stündiger Aufenthalt des Serums bei 18° C beeinflußt nicht die Genauigkeit der Bestimmung. Hingegen wird durch Konservierung bei 0° und —20° C die zur verläßlichen Ermittlung von Transferrin erforderliche Zeit deutlich herabgesetzt.

In bezug auf den Einfluß der Hämolyse berichten S. Ventura und F. Gobbi[4], daß bei Anwesenheit von 20 mg-% Hämoglobin im Serum die Änderungen der optischen Dichte des zu prüfenden Serums mit der des Serums selbst zweckmäßig verglichen werden müssen, um die Genauigkeit der Bestimmung sicherzustellen.

H. Freytag.

Die Bestimmung von p-Nitrophenol im Harn erfolgt nach D. J. Lawford und D. G. Harvey[5], indem man 0,5 ml konz. Salzsäure zu 10 ml Harn zusetzt und 2 mal mit je 25 ml eines Lösungsmittels extrahiert, welches 1% Amylalkohol in einer Mischung von Diäthyläther und Petroläther (1:4) enthält. 45 ml des Extraktes schüttelt man mit 3 ml 2 n Ammoniaklösung und behandelt die ammoniakalische Lösung mit 0,5 g Zinkstaub. Nach dem Zentrifugieren entnimmt man 2,5 ml der Lösung, fügt 0,5 ml 1%ige wäßrige o-Kresollösung zu, füllt mit 2 n Ammoniaklösung auf 5 ml auf und mißt nach 1 Std bei 620 mμ. Bei *Blut* fügt man 1 ml konz.

[1] Nature (London) **173**, 540—541 (1954). British Gelatine and Glue Res. Assoc., Holloway, London N. 7.

[2] J. biol. Chemistry **176**, 367 (1948); **192**, 663 (1951); vgl. diese Z. **135**, 206, 209 (1952); **136**, 371 (1952).

[3] Haematologica (Pavia) **37**, 847—852 (1953). Univ. Pavia (Italien).

[4] Haematologica (Pavia) **37**, 835—846 (1953).

[5] Analyst (London) **78**, 63—65 (1953). Med. Res. Counc. Lab., Hampstead, London.

Schwefelsäure und 1–2 ml Wasser zu einer genau abgewogenen Blutprobe von etwa 1 g. Man extrahiert mit 50 ml Lösungsmittel und behandelt wie weiter oben beschrieben. Die Eichkurve ist eine Gerade, wenn auf der Abszisse Mikrogramme p-Nitrophenol und auf der Ordinate die Durchlässigkeiten in Prozenten aufgetragen werden. Die Ergebnisse von Zusatzversuchen befriedigen vollkommen. K. HINSBERG.

Bei der gleichzeitigen colorimetrischen und biologischen Bestimmung von Adrenalin und Noradrenalin in Extrakten der Nebenniere von Meerschweinchen finden U. S. VON EULER und B. HÖKFELT[1], daß die Extraktionen mit saurem Äthanol, 5 und 10%iger Trichloressigsäure gleiche Resultate ergeben. Die Schwankung zwischen der colorimetrischen Bestimmung nach U. S. VON EULER und U. HAMBERG[2] oder die biologische Auswertung am Katzenblutdruck bzw. Enddickdarm des Huhnes ergab höchstens eine Differenz von 15% und bei einem Gesamtcatechingehalt von 500 μg ist der Noradrenalingehalt nur 5—15% davon. Noradrenalin konnte auch durch Papierchromatographie nachgewiesen werden. Die Verff. weisen daraufhin, daß die Ergebnisse von D. M. SHEPHERD und G. B. WEST[3] teilweise ganz andere Werte ergaben, was zum Teil mit der verschiedenen Tiersorte erklärt werden kann. Sie glauben aber, daß ihre Zahlen richtig sind, da sie durch zwei verschiedene Methoden erhärtet werden. K. HINSBERG.

Für die Bestimmung kleiner Mengen Mandelsäure in biologischem Material geben F. BISTER und J. H. WOLFF[4] in Fortführung ihrer früheren Versuche[5] ein *polarographisches Verfahren* an, mit dem noch 50 μg Mandelsäure in bis zu 50 ml Probe (Gallensaft, Urin oder Speichel des Menschen, Gallensaft oder Urin des Kaninchens oder Rindergalle) quantitativ und blindwertsfrei bestimmt werden können und 10—20 μg noch erfaßt werden. — *Arbeitsweise.* Die Probe wird zunächst durch Ansäuern mit 1 ml 8 n Schwefelsäure je 10 ml, Umschütteln und 10 min langes Zentrifugieren von Gallensäuren befreit. Zur quantitativen Umwandlung der Mandelsäure in Benzaldehyd wird die klare Lösung sodann in einem Destillierkolben mit einer frischen Suspension von 0,7—1 g Zinkmanganit[6] in 10 ml 2 n Schwefelsäure versetzt. Der gebildete Benzaldehyd wird mit beim Sieden entwickeltem Wasserdampf direkt in 3 ml einer 1%igen, frisch bereiteten Natriumhydrogensulfitlösung (die 5 ml 1%iger Tyloselösung in 100 ml enthält), abgetrieben bis das Volumen der Vorlage auf 15 ml angewachsen ist. Mit 1 ml Wasser werden letzte Anteile des Kondensats aus dem Kühlrohr nachgespült. Die Vorlage wird dann mit Phosphatpufferlösung (3 ml) auf p_H 7,7 eingestellt, auf 20 ml aufgefüllt und zwischen — 1,0 und — 1,6 V in der üblichen Weise polarographiert. Die Stufenhöhe ($E_{1/2}$ = — 1,43 V), die zur Analyse mit Eichaufnahmen verglichen wird, ist der Benzaldehydkonzentration fast streng linear proportional. Bei mehr als 0,25 mg Benzaldehyd ist der Fehler < 10%, bei 0,1 mg etwa 20%. K. CRUSE.

[1] Brit. J. Pharmacol. Chemotherapy **8**, 66—68 (1953). Karol. Inst. Stockholm.

[2] Acta physiol. scand. **19**, 74 (1949); vgl. diese Z. **135**, 463 (1952).

[3] Brit. J. Pharmacol. Chemotherapy **6**, 665 (1951).

[4] Arzneimittel-Forsch. **3**, 481—482 (1953). Asta-Werke A. G., Brackwede/W.

[5] BISTER, F., u. J. H. WOLFF: Arzneimittel-Forsch. **2**, 423 (1952); vgl. diese Z. **143**, 398 (1954).

[6] Herstellung des Zinkmanganits: 60 g $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$, 55 g $MnSO_4 \cdot 4H_2O$ und 360 g ZnO werden in 600 ml Wasser unter starkem Rühren zum Sieden gebracht. Nach Zugabe einer heißen Lösung von 26,5 g $KMnO_4$ in 600 ml Wasser und 1000 g KOH in 1 Liter Wasser wird 40 min im Sieden erhalten. Der nach Abkühlen zentrifugierte Niederschlag wird je einmal mit Wasser und Aceton aufgerührt und wieder zentrifugiert, dann bei 150° C getrocknet, anschließend gepulvert und gesiebt.

Zur Bestimmung von Khellin in biologischen Flüssigkeiten fällen J. Delphaut und C. Hedel[1] das Blut mit der 10fachen Menge Alkohol bei 95° C, filtrieren und waschen den Niederschlag mit dem 3fachen seines Volumens an Alkohol nach. Nach dem Verdampfen des Alkohols wird der Rückstand in verdünnter Salzsäure aufgenommen und nach Filtration 3 mal mit je 10 ml officinellem Chloroform erschöpfend extrahiert. Der Chloroformextrakt wird mit Aktivkohle behandelt, filtriert, das Chloroform verdampft und der Rückstand schließlich in ebensoviel Tropfen Chloroform, wie Blut in Milliliter vorhanden war, gelöst. Von dieser Lösung gibt man eine verschiedene Anzahl von Tropfen auf rundes Filtrierpapier und betrachtet die Papierstreifen im gefilterten ultraviolettem Licht. Die grüngelbe Fluorescenz wird mit der Fluorescenz von Standardlösungen verglichen. K. Hinsberg.

Zur quantitativen Extraktion von Santonin soll man nach H. Fujishita[2], um Schwierigkeiten zu vermeiden, folgendermaßen vorgehen. Man versetzt *Harn* mit 5 ml 10%iger Sodalösung, mischt mit 10%igem Calciumchlorid, erhitzt und filtriert. Das Filtrat engt man ein und erhitzt mit 2—5 ml 5 n Salzsäure 5 min im Wasserbad. Dann extrahiert man mit Benzol, wäscht das Benzol mit 5%igem Ammoniak, schüttelt mit Tierkohle, verdampft das Benzol zur Trockne, löst denRückstand in absolutem Alkohol, verdünnt mit Wasser bis zur Alkoholkonzentration von 10% und läßt in der Kälte kristallisieren. Die Kristalle werden gewogen. Eine Korrektur für die Löslichkeit von Santonin muß angebracht werden. K. Hinsberg.

Cholesterin. *Zur Bestimmung von Gesamtcholesterin* schlagen S. Pearson, S. Stern und T. H. McGavack[3] eine genaue Schnellmethode vor. — *Arbeitsvorschrift.* Man versetzt 0,1 ml *Serum* der Reihe nach mit 0,1 ml Eisessig, 0,5 ml p-Toluolsulfosäurelösung (12 g Säure in 100 ml Eisessig) und 1,5 ml Essigsäureanhydrid. Man läßt einige Zeit abkühlen, fügt dann 0,2 ml konz. Schwefelsäure hinzu und mischt sofort, bis sich der gebildete Niederschlag gelöst hat. Nach 20 min wird die optische Dichte bei 550 mμ gemessen. Die Standardlösung erhält man durch Behandeln von 0,1 ml Cholesterinlösung (200 mg Cholesterin in 100 ml Eisessig) in gleicher Weise, nur muß man an Stelle von 0,1 ml Eisessig an der entsprechenden Stelle 0,1 ml Wasser zugeben. Blindwerte zur Korrektur des Einflusses von störenden Substanzen im Serum werden erhalten durch Zugabe von 2,3 ml p-Toluolsulfonsäurelösung zu 0,1 ml Serum. E. Baertich.

Die direkte Bestimmung des Serumcholesterins nehmen I. MacIntyre und M. Ralston[4] ohne vorherige Extraktion und Eiweißfällung vor. Man gibt 0,1 ml Serum in 6 ml Eisessig, läßt 4 ml Farbreagens (0,5 ml 10%ige $FeCl_3 \cdot 6\,H_2O$-Lösung mit konz. Schwefelsäure auf 50 ml ergänzt) langsam längs der Gefäßwand zufließen, so daß 2 Schichten entstehen, kühlt und mißt die Farbe gegen eine Blindlösung bei 570 mμ. Die Ergebnisse sind gut reproduzierbar. Helga Schmidt.

Eine indirekte colorimetrische Methode zur Bestimmung des Cholesterins nach Fällung als Cholesterin-Digitonid beschreiben T. V. Feichtmeir und J. Bergerman[5]. Das Verfahren beruht darauf, daß das im Niederschlag befindliche Digitonin mit Anthronreagens bestimmt werden kann (grüne Farbe). — *Arbeitsweise.* Zur Fällung des Eiweißes und Extraktion kocht man 1 ml Serum mit 15 ml Aceton-

[1] Bull. Soc. Chim. biol. (Paris) **35**, 368—369 (1953). Fac. Méd. et Pharm., Marseille (Frankreich).

[2] Nagasaki Igakkai Zassi **28** (Abstr.), 10—11 (1953) [Japanisch] (nach engl. Zus.-Fass. ref.). Univ. Nagasaki (Japan).

[3] Analyt. Chemistry **25**, 813—814 (1953). Metropol. Hospit. Res. Unit, New York.

[4] Biochemic. J. (Proc.). **56**, XLII (1954). Postgraduate Medical School, London.

[5] Amer. J. clin. Pathol. **23**, 599—602 (1953). Veterans Administr. Hosp., San Francisco 21, Calif. (USA).

Alkohol (1:1) auf, kühlt ab und füllt auf 25 ml auf. 5 ml Filtrat werden mit 0,5 ml 5 n Kalilauge in 40 min bei 37° C verseift. Die Kalilauge neutralisiert man mit 1 ml 2,5 n Essigsäure und gibt dann noch 1,5 ml Wasser zu, um eine homogene Lösung zu erhalten. Zur Fällung des freien Cholesterins mischt man 5 ml Aceton-Alkoholfiltrat mit 3 ml Wasser, gibt 1 ml Digitoninlösung (0,75% in 85%igem Alkohol) zu, schüttelt 15 min, zentrifugiert, wäscht den Niederschlag mit 3 ml Isopropylalkohol (mit Cholesterin-Digitonid gesättigt), entfernt die Flüssigkeit möglichst vollkommen, löst in 10 ml dest. Wasser und entnimmt 2 ml, die mit 5 ml Anthronreagens (0,2% in 95%iger Schwefelsäure) klar gemischt werden. Die Intensität der grünen Farbe ist direkt dem Cholesteringehalt proportional. Man mißt bei 625 mμ. Der besondere Vorteil liegt in der großen Genauigkeit. Die durchschnittliche Ausbeute beträgt 97%. K. Hinsberg.

Zur Bestimmung von freiem Serum-Cholesterin durch die Digitonin-Fällungsmethode werden von H. H. Brown, A. Zlatkis, B. Zak und A. J. Boyle[1] 2 Verfahren empfohlen, und zwar das von E. Obermer und R. Milton[2] und das von ihnen selbst entwickelte. Bei dem ersten fördert ein Zusatz von Aluminiumhydroxyd die Fällung von Cholesterin-Digitonid, das zweite arbeitet mit Aluminiumchlorid. Das Fällungsprodukt wird abzentrifugiert, gewaschen, in Eisessig gelöst und als roter Farbstoff nach Zlatkis colorimetriert. (Farbreagens: Zu 1 ml einer Lösung von 1 g $FeCl_3 \cdot 6\ H_2O$ in 10 ml Eisessig gibt man 15 ml konz. Schwefelsäure, mischt und füllt mit Schwefelsäure auf 100 ml auf. 2 ml dieses Reagenses sind erforderlich für 3 ml essigsaure Cholesterinlösung.) Hildegard Telschow.

Zur Bestimmung von Ergosterin in der Hefe veröffentlichen W. H. C. Shaw und J. P. Jefferies[3] eine Folge von Arbeiten. *Das Absorptionsspektrum von gereinigtem Ergosterin* in absolutem Alkohol enthält entsprechend den Angaben in der Literatur 2 ausgesprochene Maxima bei 271,5 und 282 mμ, einen dritten schwachen Gipfel bei 293,5 mμ und zwei kleine Wellen in der Kurve bei 253 und 263 mμ. Die unterschiedlichen Angaben über die spezifische Extinktion von Ergosterin beruhen zum Teil auf verunreinigten Lösungsmitteln, was besonders für Cyclohexan zutrifft, zumTeil auf verunreinigtem Ergosterin. Nach den Angaben der Verff. läßt sich dieses am besten aus 1 Teil 95%igem Alkohol und 2 Teilen Benzol mehrfach umkristallisieren. Es kristallisiert in wasserhaltiger Form. Man findet dann eine mittlere spezifische Extinktion von $E\,{}^{1\%}_{1\,cm}$ von 276,3 bei 271,5 mμ, von 291,1 bei 282 mμ und von 165,9 bei 293,5 mμ. Der Benzoesäureester wird aus Äthylacetat umkristallisiert bis zu einem Schmelzpunkt von 171° C mit konstanter Drehung und einer spezifischen Extinktion von 258,9 bei 284 mμ. Die Extinktionen in absolutem Alkohol oder Cyclohexan gemessen sind fast gleich. Bei Messung in Chloroform und Äthylenchlorid müssen andere Wellenlängen genommen werden.

Die Verseifung und Bestimmung durch Ultraviolettabsorption zur Untersuchung des Ergosteringehaltes in der Hefe hat nach den Angaben der Verff. bedeutende Vorteile. Bei einer Nachprüfung der Verseifungsbedingungen zeigte sich, daß zur vollständigen Verseifung eine 40%ige wäßrige Kalilauge bei einer Kochdauer von 2 Std am günstigsten ist. — *Arbeitsvorschrift.* Man kocht 5 g frische Hefe mit 10 ml 40%iger Kalilauge 2 Std am Rückfluß. Nach dem Abkühlen extrahiert man 3 mal mit je 50 ml Äther, wäscht die Ätherextrakte 2 mal mit je 25 ml Wasser aus, filtriert durch Watte, verdampft zur Trockne, löst in absolutem Alkohol und fällt

[1] Analyt. Chemistry **26**, 397—399 (1954). Wayne Univ., Detroit, Mich. (USA).

[2] Biochemic. J. **27**, 345 (1933); vgl. diese Z. **94**, 447 (1933).

[3] Analyst. (London) **78**, 509—514, 514—519, 519—523, 524—528 (1953). Glaxo Lab., Ltd., Greenford, Middles. (England).

einen aliquoten Teil mit Digitonin. Man erwärmt zuerst in einem Wasserbad von 70° C, läßt dann über Nacht stehen, zentrifugiert ab, suspendiert den Niederschlag in 5 ml absolutem Alkohol, wäscht das Glas mit absolutem Alkohol aus, erwärmt bis zur Lösung des Niederschlages, kühlt ab und füllt auf 50 ml auf. Die Extinktion dieser Lösung kann bei 282 mμ direkt gemessen werden, da Digitonin die Extinktion nicht beeinflußt. Zur Kontrolle kann eine Messung bei 310 mμ gemacht werden, die eine Extinktion unter 0,01 ergeben muß (für einen Wert von 0,5—0,6 bei 282 mμ).

In den rohen Hefeextrakten ist auch ein Stoff vorhanden, welcher ebenfalls bei 282 mμ eine Extinktion gibt. Daher ist es nötig, bei mehreren Wellenlängen abzulesen und daraus einen Korrekturfaktor zu berechnen. Diesen Faktor findet man bei Verwendung von 2 Hilfswellenlängen für die Lösungen von Alkohol und Cyclohexan nach folgenden Gleichungen:

(Alkohol) $F = 7 - 2{,}68 \times E_{278{,}3}/E_{281{,}8} - 4{,}32 \times E_{284{,}3}/E_{281{,}8}$

(Cyclohexan) $F = 7 - 2{,}99 \times E_{279{,}1}/E_{282{,}2} - 4{,}01 \times E_{284{,}6}/E_{282{,}2}$

Der Faktor muß von der Extinktion, die bei 282 mμ für den Rohextrakt gefunden worden ist, in Abzug gebracht werden. Nimmt man eine vierte Wellenlänge von 310 mμ, bei welcher die Extinktion fast 0 ist, zu Hilfe, so ergeben sich folgende korrigierte Gleichungen für Alkohol und Cyclohexan:

E_{282} (korrigiert) $= 2{,}505 \times E_{282} + 1{,}395 \times E_{293{,}5} - 2{,}421 \times E_{271{,}5} - 1{,}479 \times E_{310}$,

E_{282} (korrigiert) $= 2{,}513 \times E_{282} \times 1{,}205 \times E_{294} - 2{,}327 \times E_{271{,}5} - 1{,}389 \times E_{310}$.

Bei einem Vergleich der Digitoninfällungsmethode mit den Korrekturmethoden ergibt sich, daß die Unterschiede sehr gering sind. Da aber einige Hefesorten nur sehr wenig Ergosterin enthalten, wird empfohlen, um störende Substanzen zu entfernen, diese Hefeproben zuerst mit Wasser zu extrahieren; für genaue Resultate ist jedoch bei geringen Gehalten die Anwendung der Digitoninmethode notwendig.

Die von den Verff. beschriebene *Apparatur zur Hydrolyse* besteht im wesentlichen aus einem Hartglaskolben, der kugelförmig erweitert ist und einen eingeschliffenen Kondensator trägt. Zur Verseifung verwendet man 40%ige wäßrige Kalilauge, bei 0,2 g Hefe mindestens 1,5 ml. Als Extraktionsmittel bewährt sich am besten Cyclohexan (Kp 81° C), das auch bei der Ultraviolettmessung nicht stört. Bei Verwendung der oben angeführten Korrekturmethode unter Messung bei 4 Wellenlängen erhält man fast dieselben Werte wie nach der Digitoninmethode. Es wird aber empfohlen, bei unbekannten Hefestämmen zuerst die Digitoninmethode zu verwenden. Die Menge von wasserfreiem Ergosterin muß rechnerisch ermittelt werden. K. Hinsberg.